

Auswirkungen der maschinellen Masthuhn- Verladung im Vergleich zur manuellen Verladung auf Tierwohl und Verhalten anhand von Stressparametern



von Inga Magdalena Wolff

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

Auswirkungen der maschinellen Masthuhn-Verladung im
Vergleich zur manuellen Verladung auf Tierwohl und
Verhalten anhand von Stressparametern

von Inga Magdalena Wolff
aus Kempten (Allgäu)

München 2020

Aus dem Veterinärwissenschaftlichen Department
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Lehrstuhl für Tierschutz, Verhaltenskunde, Tierhygiene und Tierhaltung

Arbeit angefertigt unter der Leitung von: Univ.-Prof. Dr. Michael H. Erhard

Mitbetreuung durch: Dr. Helen Louton und Dr. Sandrina Klein

Gedruckt mit der Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D.

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Michael H. Erhard

Korreferent/en: Priv.-Doz. Dr. Monika Rinder

Tag der Promotion: 8. Februar 2020

Dem Federvieh

INHALTSVERZEICHNIS

I.	EINLEITUNG	1
II.	ERWEITERTE LITERATURÜBERSICHT	3
1.	Flügelschlagen bei der Fangmaschinenverladung	3
2.	Schallpegel und Lichtintensität.....	4
3.	Corticosteron und Cortisol.....	5
III.	MATERIAL UND METHODEN	7
1.	Erweiterte Beschreibung des Materials	8
1.1.	Mastbetriebe	8
1.2.	Masthühner.....	9
1.3.	Verwendete Container	9
1.4.	Fangmaschine.....	10
1.5.	Fangkolonne	12
1.6.	Technische Hilfsmittel	12
2.	Erweiterte Beschreibung der Methodik.....	13
2.1.	Verhaltenstests und Ausschluss des TI-Test	13
2.1.1.	Stationary Person Test.....	14
2.1.2.	Avoidance Distance Touch Test	15
2.1.3.	Verhaltensbeobachtung während der Verladung	16
2.2.	Blutuntersuchungen.....	18
2.2.1.	Corticosteron und Cortisol	18
2.2.2.	H/L Ratio.....	20
IV.	PUBLIZIERTE STUDIENERGEBNISSE	22
V.	ERWEITERTE ERGEBNISSE.....	35
1.	Flügelschlagen bei der Fangmaschinenverladung	35
2.	Schallpegel und Lichtintensität.....	39
3.	Corticosteron und Cortisol.....	39
VI.	ERWEITERTE DISKUSSION.....	41

1.	Flügel schlagen bei der Fangmaschinenverladung	41
2.	Schallpegel und Lichtintensität.....	42
3.	Corticosteron und Cortisol.....	43
VII.	SCHLUSSFOLGERUNG.....	46
VIII.	ZUSAMMENFASSUNG	48
IX.	SUMMARY.....	51
X.	ERWEITERTES LITERATURVERZEICHNIS	54
XI.	ANHANG	59
1.	Abbildungsverzeichnis	59
1.1.	Abbildungen aus den Kapiteln III, V und VI.....	59
1.2.	Abbildungen in den bereits publizierten Ergebnissen (Kapitel IV)	60
XII.	ABKÜRZUNGEN	62
XIII.	DANKSAGUNG	63

I. EINLEITUNG

In den letzten Jahren ist die Thematik des Tierwohls zusehends in den Fokus der Öffentlichkeit geraten, was man auch anhand der aktuellen Diskussionen über staatliche und nicht-staatliche Tierwohllabel erkennen kann. Hierbei wird nicht nur ein Augenmerk auf die Haltungsbedingungen, sondern explizit auch auf das Verladen, den Transport und die Schlachtung der Tiere gelegt. In Anbetracht der steigenden Schlachtzahlen ist es notwendig diesen Aspekten ausreichend Aufmerksamkeit zu schenken. Im Jahr 2018 wurden in Deutschland 622.492.320 Jungmasthühner geschlachtet (STATISTISCHES BUNDESAMT, 2019). Da nicht alle Tiere das Fangen, Verladen oder den Transport überleben, werden also mehr Masthühner gefangen und transportiert, die nicht in die Schlachtzahlen miteinfließen. Ein gewisser Tierverlust während des Transports kann nicht vollständig vermieden werden, in einer Studie von NIJDAM et al. (2004) beläuft sich dieser auf durchschnittlich 0,46 %. Dieser Tierverlust ist unter anderem abhängig von der Jahreszeit beziehungsweise Umgebungstemperatur sowie von fang- und transportbedingten Verletzungen (BAYLISS und HINTON, 1990; GOCKE, 2000). Um diesen Tierverlust, der in der „Dead on Arrival (DOA) Rate“ dokumentiert wird, so gering wie möglich zu halten, ist es notwendig das Fangen, Verladen und den Transport der Masthühner so schonend wie möglich zu gestalten.

Der Großteil der in Deutschland geschlachteten Masthühner wird manuell gefangen und verladen (KNIERIM und GOCKE, 2003). Die gesetzlichen Vorgaben bezüglich des manuellen Fangs befinden sich in den Bundeseinheitlichen Leitlinien für die gute betriebliche Praxis zur Haltung von Masthühnern (2012) des BMELV. Es gibt zwar bereits seit den frühen Achtzigerjahren Bemühungen die Verladung von Masthühnern mithilfe von Fangmaschinen zu mechanisieren (LACY und CZARICK, 1998), aktuell werden in Deutschland aber nur ca. 5 % maschinell gefangen. Der Einsatz von Fangmaschinen hat den Vorteil, dass kein direkter Mensch-Tier-Kontakt stattfinden muss, welcher einen nicht zu kontrollierenden Faktor darstellt. Unter Zeitdruck und durch Ermüdung der Fänger kann es zu rücksichtslosem Umgang mit den Masthühner kommen und dies zu Verletzungen und Todesfällen der Masthühner führen (GOCKE, 2000; GUSSEM et al., 2016). Die Vorteile der Automatisierung des Fangprozesses sind neben dem

einheitlicherem und dadurch weniger stressbehaftetem Fangprozess, reduzierte Kosten sowie verbesserte Arbeitsbedingungen der Fänger (LACY und CZARICK, 1998). Der Europarat hat bereits in der im Jahr 1995 erschienenen „Empfehlung in Bezug auf Haushühner der Art *Gallus Gallus*“ in Artikel 17 gefordert, dass die Entwicklung und der Einsatz von verbesserten Fang- und Transportsystemen vorangetrieben werden soll, um den Tierschutz zu verbessern.

Diese Studie ist ein Teilprojekt eines größeren Forschungsprojekts zum Thema Tiergesundheit, Tierwohl, Hygieneaspekte und Wirtschaftlichkeit der Mastgeflügelverladung. In der vorliegenden Studie wird das Stressverhalten der Masthühner während der Verladungen durch die Fangmaschine Apollo Generation 2 von CMC INDUSTRIES (Cazzago San Martino BS, Italien) mit dem manuellen Zweibein-Fang durch professionelle Fangkolonnen verglichen. Die italienische Firma CMC INDUSTRIES hat derzeit einen Marktanteil von 85 % am automatischen Fangen von Geflügel (CMC INDUSTRIES, 2019). Neben dem Verhalten der Masthühner werden physiologische Stressmarker im Blut ausgewertet und versucht ein Zusammenhang zwischen physischem und physiologischem Stressverhalten aufzuzeigen. Das Verhalten jeder Herde wird zunächst vor der Verladung mit Hilfe von Verhaltenstests evaluiert, die Herden werden während der Verladung gefilmt und anschließend das Verhalten anhand der Videoaufnahmen analysiert. Für die Blutwerte Corticosteron, Cortisol und die Heterophilen/Lymphozyten Ratio (H/L Ratio) werden am Schlachthof nach dem Entblutungsschnitt genommene Blutproben ausgewertet. Die Blutproben werden erst am Schlachthof genommen, um ein direktes Handling der Masthühner zu vermeiden. Anhand der Ergebnisse werden die Fangmethoden „maschineller Fang mit der CMC Apollo Generation 2“ und „manuelles Fangen an zwei Beinen durch professionelle Fänger“ miteinander verglichen und Unterschiede herausgearbeitet. Das Ziel der Studie ist es eine Aussage treffen zu können, ob der maschinelle Fang mit der Fangmaschine CMC Apollo Generation 2 (Mech) dem manuellen Zweibein-Fang (Man) bezüglich Tierwohl und Tierschutz zu bevorzugen ist. Ein zusätzliches Ziel der Studie ist es, Empfehlungen zur Verbesserung der Fangprozesse auszuarbeiten.

II. ERWEITERTE LITERATURÜBERSICHT

1. Flügelschlagen bei der Fangmaschinenverladung

Es gibt wenig Literatur, die sich mit dem Thema Flügelschlagen während der Verladung von Masthühnern beschäftigt. Flügelschlagen lässt sich sowohl beim manuellen Fang, als auch bei der Fangmaschinenverladung beobachten. Bei der Fangmaschinenverladung verlagern sich die Verletzungen hin zu den Flügeln, wohingegen beim manuellen Fang vermehrt Verletzungen an den Ständern auftreten (FRIES, 2014; KNIERIM und GOCKE, 2003). Dies ist der Tatsache geschuldet, dass die Masthühner bei der Fangmaschinenverladung an Maschinenteile stoßen können, welche bei der CMC Apollo Generation 2 teilweise aus nichtflexiblem Material sind. In der Untersuchung von GOCKE (2000) zeigten etwa 90 % der Masthühner Flügelschlagen bei einem Förderbandwechsel, der einhergehend mit einem Höhenunterschied von etwa 10 cm war. In erwähnter Studie wurde allerdings die Fangmaschine vom Typ „chicken cat“ untersucht. Zu vermehrtem Flügelschlagen kommt es bei der Fangmaschinenverladung auch beim Richtungswechsel der Förderbänder (FRIES, 2014). Daraus lässt sich folgern, dass die Förderbandwechsel möglichst sanft ablaufen müssen um das Flügelschlagen zu vermeiden. Das Flügelschlagen wird als Abwehrreaktion auf einen Stressor gewertet, welches als Angstverhalten interpretiert werden kann (KANNAN et al., 1997). In der Bauweise der CMC Apollo Generation 2 besteht einer von insgesamt sechs Förderbandwechseln sowohl aus einem Höhenunterschied von etwa 10 cm als auch einem Richtungswechsel, sodass hierauf in vorliegender Untersuchung ein besonderes Augenmerk gelegt wird.

Die Fragestellung, ob beim maschinellen Fangen das Auftreten von Flügelschlagen abhängig von der Bewegung der Förderbänder ist, scheint bisher nicht wissenschaftlich untersucht zu sein. Die Bewegung der Förderbänder kann eingeteilt werden in laufende Förderbänder, stehende Förderbänder und anhaltende bzw. anlaufende Förderbänder. Der Einfluss der Bewegung der Förderbänder scheint relevant, um die Einstellung der Fangmaschine zu optimieren und dadurch das Tierwohl bei der Fangmaschinenverladung weniger zu beeinträchtigen.

2. Schallpegel und Lichtintensität

In den Bundeseinheitlichen Leitlinien zur Haltung von Masthühnern des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV) von 2012 sind Mindestangaben unter anderem zu den Aspekten Schallpegel und Lichtintensität festgesetzt. In den Stallungen von Masthühnern sollte der Schallpegel 65 – 85 dB nicht dauerhaft überschreiten und es muss während der Lichtstunden eine Lichtintensität von mindestens 20 Lux auf Augenhöhe der Tiere herrschen (BMELV, 2012). Die Leitlinien empfehlen zudem das Verladen von Masthühnern bei gedimmtem Licht, da dies zur Reduktion von Stress und des Verletzungsrisikos beitragen kann. GÖCKE (2000) hat in ihrer Untersuchung eine Interaktion zwischen Fangmethode und Lichtintensität aufzeigen können. Beim manuellen Fang kam es im Hellen zu signifikant mehr Verletzungen als im Dunkeln. Wohingegen sich beim maschinellen Fang kein Unterschied feststellen ließ. Jedoch konnte GÖCKE (2000) für beide Fangmethoden ein erhöhtes Verletzungsrisiko bei Helligkeit nachweisen. Bei höheren Lichtintensitäten kommt es laut GÖCKE (2000) zu einer stärkeren Unruhe der Masthühner, was das Auftreten von Verletzungen begünstigt.

Das Aktivitätslevel von Masthühnern ist von der Lichtintensität abhängig (NEWBERRY et al., 1988). In der vorliegenden Studie wird angenommen, dass Masthühner bei helleren Lichtverhältnissen aktiver sind und verstärkt Lautäußerungen zeigen. Daraus ergibt sich die Fragestellung, ob ein direkter Zusammenhang zwischen der vorherrschenden Lichtintensität und dem Schallpegel besteht. Es ist ein natürliches Verhalten, besonders der Hähne, die Hühnerschar vor Gefahr durch Rufe zu warnen (BAEUMER, 1964). Höhere Lichtintensitäten führen zu einer vermehrten Erregbarkeit der Masthühner und könnten bewirken, dass die Masthühner die potentielle Gefahrenquelle früher erkennen und eher Warnrufe ausstoßen. Diese Warnrufe lassen sich als eine Lautäußerung aufgrund von Stress verstehen, welche bei anderen Masthühnern gleichwohl Stress auslösen können. Dieses Verhalten könnte durch höhere Lichtintensitäten begünstigt werden.

3. Corticosteron und Cortisol

Zur Beurteilung von Stress wird beim Vogel oft die Corticosteron-Messung verwendet (WEIN et al., 2016) und das Cortisol meist außen vor gelassen. Corticosteron ist das primäre Glukokortikoid von Vögeln (LECHNER et al., 2001; ENGELHARDT und BREVES, 2010; SCANES, 2016), wobei der aviäre Organismus auch Cortisol produziert (LECHNER et al., 2001). Die Cortisol Konzentration im Plasma von Singvögeln, welches überwiegend im Thymus und der Bursa Fabricii produziert wird, nimmt allerdings im Vergleich zum adrenal gebildeten Corticosteron mit zunehmendem Alter ab (SCHMIDT und SOMA, 2008). Die Sekretion von Glukokortikoiden ist eine klassische endokrine Reaktion auf Stress und bewirkt metabolische und immunmodulierende Effekte (GOESSLING et al., 2015; KNOWLES und BROOM, 1990; SAPOLSKY et al., 2000). Corticosteron und Cortisol unterscheiden sich in ihren biochemischen Formeln nur in einer Hydroxylgruppe und Kreuzreaktionen zwischen Corticosteron und Cortisol sind möglich (FREEMAN und FLACK, 1980). Dies könnte durchaus zur Verfälschung von Blutwerten führen. Die Blutwerte können aber auch durch andere Faktoren wie zum Beispiel die Art der Probennahme beeinflusst werden. Um diesen Einfluss zu minimieren wurden die Blutproben erst am Schlachthof genommen. Die im Gewebe wirksamen Glukokortikoidkonzentrationen sowie deren Wirkung hängen von unterschiedlichen Einflüssen ab, zum Beispiel werden bei Belastung Glukokortikoide durch die Ausschüttung von ACTH vermehrt gebildet (ENGELHARDT und BREVES, 2010; SCANES, 2016). Neben den Glukokortikoiden ist die H/L Ratio, welche von Glukokortikoiden beeinflusst wird und sich bei Stress verschiebt (SCANES, 2016), ein häufig verwendeter Stressmarker bei Geflügel. Es kommt zu einer Lymphopenie bei gleichzeitiger Leukozytose (GROSS und SIEGEL, 1983). Die Konzentration von Corticosteron steigt aufgrund verschiedener Faktoren an, daher wird deren Aussagekraft bei Stress immer wieder in Frage gestellt und man sollte die Glukokortikoidkonzentrationen immer im Zusammenhang mit anderen Faktoren, wie der H/L Ratio oder dem Verhalten der Masthühner betrachten (SCANES, 2016). In der Untersuchung von KANNAN et al. (1997) haben Tiere mit erhöhten Corticosteronkonzentrationen im Plasma weniger aktives Verhalten, wie Flügelschlagen, gezeigt. Vielmehr waren diese Tiere augenscheinlich ruhiger beziehungsweise tonisch immobil, während sie kopfüber transportiert wurden.

Diesen Zusammenhang konnten GUDEV et al. (2011) in ihrer Untersuchung allerdings nicht nachweisen und zweifeln die Validität vom Tonic Immobility Test als Indikator für Angst an. Man sollte darauf achten zwischen Angst und Stress zu differenzieren. Die Begriffe können nicht synonym verwendet werden, aber Angst ist eine wichtige Komponente von Stress (JONES et al., 1987). In der vorliegenden Studie werden die verschiedenen Parameter (Corticosteron, Cortisol, H/L Ratio und Verhalten) an sich und ihre Korrelationen untereinander betrachtet, um ein möglichst genaues Bild zum Thema „verladebedingter Stress beim Masthuhn“ zu erhalten.

III. MATERIAL UND METHODEN

Die Untersuchungen der Studie fanden von Dezember 2016 bis einschließlich August 2017 in niederbayrischen Mastgeflügelställen und dem Schlachthof Donautal Geflügelspezialitäten Zweigniederlassung der Lohmann & Co. KG in Bogen statt. Die Datenerhebung wurde in vier Intervalle eingeteilt: Dezember/Januar (kalt), Februar/März (mäßig kalt), April/Mai (mäßig warm) und Juni/Juli/August (warm), um die Ausstellung zu den verschiedenen klimatischen Bedingungen in der Region zu begleiten. Pro Intervall wurden zwei oder drei Verladungen pro Fangmethode einbezogen und die entsprechenden Untersuchungen durchgeführt. Anhand von je zwölf Herden pro Fangmethode wurde der maschinelle mit dem manuellen Fang verglichen. Die Methodik wurde zunächst an zwei Verladungen pro Fangmethode erprobt und folglich wurden zehn Herden pro Fangmethode in die Auswertung mit aufgenommen.

Um aussagekräftige Daten zu erheben, wurden die Untersuchungen in drei Stufen durchgeführt:

1. Verhaltenstest im Rahmen der Voruntersuchung
2. Filmische Verhaltensbeobachtung während der Verladung
3. Untersuchung von am Schlachthof gewonnenem Blut

Die Idee war, sich ein Bild über die grundsätzliche Nervosität der einzelnen Herden zu verschaffen (Verhaltenstests), ihre direkte Reaktion auf den Stressor „Fangprozess“ zu messen (Verhaltensbeobachtung) und die Auswirkung des psychischen Stress auf die Physiologie zu beurteilen (Blutuntersuchungen).

1. Erweiterte Beschreibung des Materials

1.1. Mastbetriebe

Die Mastbetriebe hatten folgende Voraussetzungen zu erfüllen:

- Entfernung Schlachthof – Mastbetrieb max. 130 km (Transportdauer max. 2 Stunden)
- Einheitliche Wartezeit am Schlachthof für die Masthühner (ca. 1 Stunde)
- Masthühner der Linie Ross 308
- Fangmethode:
 - o Maschinell: Fangmaschine Apollo Generation 2 (CMC Industries, Cazzago San Martino BS, Italien)
 - o Manuell: spezialisierte gewerbliche Fangkolonne, keine Familienangehörigen, fangen der Masthühner an zwei Beinen
- Mastdauer von 38 – 41 Tagen (Endausstallung)
- Herden, die einen mindestens durchschnittlichen Gesundheitsstatus aufweisen (Mortalitätsrate maximal 5% und keine antibiotische Behandlung in den letzten 10 Tagen vor der Verladung)
- Besatzdichte bis 39 kg/m²

Die Mastbetriebe, auf denen die Untersuchungen durchgeführt wurden, waren allesamt Vertragspartner des Schlachthofes Donautal Geflügelspezialitäten Zweigniederlassung der Lohmann & Co. KG in Bogen. Einzelne Betriebe gehörten dem Unternehmen direkt an. Die Betriebe hatten eine Kapazität zwischen 18.500 und 54.000 Masthühnern, wobei die Masthühner auf 1 bis 8 Stallkomplexe verteilt gewesen sind. Auf einzelnen Betrieben wurden die Masthühner auf zwei übereinanderliegenden Ebenen gehalten. In diesen mehrstöckigen Betrieben wurden die Masthühner manuell gefangen.

Die Koordination mit den Betrieben und dem Schlachthof wurde von Herrn Martin Gotthart, Mitarbeiter im Außendienst der Brüterei Süd übernommen. Herr Gotthart

war bei den meisten Ausstellungen anwesend oder ist von einem Kollegen vertreten worden.

1.2. Masthühner

Bei den untersuchten Herden handelte es sich um Masthühner der Linie Ross 308, die in der Brüterei Süd ZN der BWE- Brüterei Weser- Ems GmbH & Co. KG in Regenstauf geschlüpft sind. Die Brüterei und der Schlachthof gehören zur PHW-Gruppe / Lohmann & Co. AG. Das Alter der Elterntiere variierte zwischen der 1. und 36. Legewoche.

Die Masthühner wurden als Eintagsküken in den Vertragsmästereien eingestallt und unter konventionellen Schwermast-Bedingungen aufgezogen. In einer der insgesamt 24 untersuchten Herden wurde den Masthühnern Beschäftigungsmaterial (Picksteine und Strohballen) angeboten. Am Tag der Ausstellung waren die Masthühner zwischen 37 und 42 Tage alt und wogen im Schnitt 2543,2 g. Alle Masthühner wurden während der Mast vorschriftsgemäß gegen Newcastle Disease geimpft.

1.3. Verwendete Container

Bei beiden Fangmethoden wurden ausschließlich Containermodule vom Typ „GP live bird container supply system“ der Firma Marel Stork Poultry Processing (Gardabaer, IS-210 Iceland) verwendet (s. Abb. 1). Es handelte sich um Container, die in acht Schubladen unterteilt waren. Diese waren nebeneinander in zwei Reihen eingeteilt, sodass je vier Schubladen übereinander angeordnet waren. Die Schubladen wurden von unten nach oben mit Masthühnern beladen, wobei die Tiere stets von oben in die Schubladen abgesetzt wurden. Bei der Verladung mit der Fangmaschine wurde das Absetzen der Tiere in die Container von ein bis zwei Arbeitern kontrolliert.



Abbildung 1: Die verwendeten Container der Firma Marel Stork Poultry Processing (Gardabaer, IS-210 Iceland) während einer maschinellen Verladung, wobei die unteren Schubladen bereits mit Masthühner beladen wurden.

1.4. Fangmaschine

Während des Versuchs kam eine Geflügelfangmaschine vom Typ „Apollo Generation 2“ (CMC Industries, Cazzago San Martino BS, Italien) zum Einsatz. Die Maschine bestand aus fünf hintereinander geschalteten Förderbändern, die die Masthühner ohne direkten Menschenkontakt in die Containerschubladen beförderten. Die Masthühner wurden von einem 9 m breiten Fangkopf vom Stallboden auf das erste Förderband aufgeladen, welches eine leichte Inkliniation aufwies (Förderbandwechsel 1). Von diesem gelangten die Masthühner auf das zweite Förderband (Förderbandwechsel 2). Das zweite Förderband verlief von zwei Seiten quer zum ersten, um die Masthühner in die Mitte der Maschine zu transportieren, wo sie auf das dritte Förderband gelangten (Förderbandwechsel 3). Das dritte Förderband war sehr kurz und ist ohne Richtungsänderung in das vierte Förderband übergegangen. Daher wurde dieser Wechsel zwischen den Förderbändern nicht in die Datenerhebung aufgenommen. Das vierte Förderband wies eine deutlichere Inkliniation auf und ging in das fünfte Förderband über (Förderbandwechsel 4), welches durch den beweglichen Arm der Maschine lief.

Dieser in Höhe und Seitenausrichtung schwenkbare Arm wurde von zwei Arbeitern bedient, die das Beladen der Containerschubladen kontrollierten (Förderbandwechsel 5). Die Förderbänder haben eine ansteigende Geschwindigkeit aufgewiesen, um das Verladen der Masthühner zeitlich zu koordinieren, die Breite der langsam verlaufenden ersten Förderbänder und somit die Anzahl an aufgenommenen Tieren zu kompensieren und zu vermeiden, dass Tiere zwischen den Bändern eingeklemmt wurden. Die Fangmaschine besaß einen fahrbaren Antrieb, welcher von einem Arbeiter gesteuert wurde. Ein weiterer Arbeiter kontrollierte das Aufladen der Masthühner im vorderen Bereich der Fangmaschine und sortierte bereits verendete Masthühner aus oder konnte, falls erforderlich, die Maschine anhalten. Alle Personen, die Elemente der Fangmaschine bedienten, besaßen einen Sachkundenachweis nach §17 der Tierschutz-Nutztierhaltungsverordnung.

Zwei Container fanden auf einem drehbaren Modul (Karussell) Platz, das an die Verladeplattform der Fangmaschine angehängt wurde. Auf der Verladeplattform standen die Fänger, die den schwenkbaren Arm der Fangmaschine bedienen haben. Durch das drehbare Karussell wurde ein gleichzeitiges Beladen und An-/Abtransportieren ermöglicht. Die Container wurden mittels Gabelstapler vom LKW in den Stall und zurück befördert. Aufgrund des Karussells kamen die Container nicht in Berührung mit dem Stallboden, was sich positiv auf die Hygiene auswirkte. Dieser Aspekt könnte sich ebenso positiv auf die Sicherheit der Arbeiter und das Stresslevel der Tiere ausgewirkt haben. Zudem waren im Bereich des drehbaren Karussells vier Wiegezellen integriert, sodass auf Grundlage des Durchschnittsgewichts der Herde die Besatzdichte der Container voreingestellt werden konnte. Die Besatzdichte auf Grundlage des Gewichtes wurde sowohl für die einzelnen Schubladen, als auch für den Container voreingestellt.

Beim Fangen wurde am Stalltor begonnen und der Stall der Länge nach in Bahnen abgefahren. Um die sich an der Stallwand befindlichen Masthühner vor die Maschine zu treiben, benutzte der vorderste Arbeiter einen Laubbläser. Der Laubbläser wurde gegen die Stallwand gerichtet und durch die zurückgeworfene Luft bewegten sich die Masthühner von der Wand weg und vor die Fangmaschine.

Die Fangmaschine ließ sich mit einem Hochdruckreiniger, Wasser, Reinigungs- und Desinfektionsmittel reinigen. Das Gehäuse war verzinkt und die Hauptkomponenten waren aus Edelstahl.

Der Hersteller hat mit einer Verlademenge von 16 bis 25 Tonnen/Stunde geworben.

1.5. Fangkolonne

Während der Versuchsdauer kamen ausschließlich professionelle Fangkolonnen zum Einsatz. Die Fangkolonnen bestanden aus sechs bis zehn Personen. Während der Verladung wurde mindestens eine Pause gewährleistet. Von allen beteiligten Fängern wurde eine schriftliche Einwilligung bezüglich der Erstellung von Videomaterial eingeholt. Alle beteiligten Personen besaßen eine Sachkundebelehrung nach §17 Abs. 7 der Tierschutz-Nutztierhaltungsverordnung.

1.6. Technische Hilfsmittel

Die Videos, die im Rahmen der Verhaltenstests und -beobachtung erstellt wurden, wurden mit einer Sony Cyber-shot DSC-RX100 (Sony Europe B.V., Zweigniederlassung Deutschland, Berlin) aufgenommen.

Um die Beleuchtung der Videoaufnahmen zu optimieren, wurde eine NITECORE CHAMELEON CB6 (SYSMAX Innovations Co., Ltd., Guangdong, China) Taschenlampe verwendet. Es wurde das grüne Licht auf dritter Stufe eingesetzt.

Die Lichtintensitäten (lux) in den Stallungen, welche für jede Voruntersuchung händisch eingestellt wurde, wurden mit einem Pocket-Lux 2 Beleuchtungsstärkemessgerät (LMT Lichtmesstechnik GmbH, Berlin, Deutschland) ermittelt. Mit dem gleichen Gerät wurde auch während jeder Verladung an drei Stellen die Lichtintensität auf Kopfhöhe der Masthühner gemessen. Der endgültige Wert wurde aus den Einzelwerten der sechs geometrischen Ebenen und der drei Messbereiche berechnet.

Der Schallpegel (dB) wurde mit einem Schallpegelmesser PCE 322A (PCE Instruments UK Ltd, UK) ermittelt. Der Schallpegel wurde jeweils an drei Stellen auf Kopfhöhe der Masthühner gemessen. Bei dem maschinellen Fang wurden im Bereich der Tiere vor dem Fangkopf der Fangmaschine gemessen. Aus den gemessenen Werten wurde ein Durchschnittswert errechnet.

2. Erweiterte Beschreibung der Methodik

2.1. Verhaltenstests und Ausschluss des TI-Test

Von den insgesamt 24 untersuchten Herden wurden 20 Herden (je 10 Herden/Methode) in die Auswertung miteinbezogen. Dies lag daran, dass der anfänglich geplante Tonic Immobility (TI) Verhaltenstest sich als nicht durchführbar herausgestellt hat. Die tonische Immobilität ist eine angeborene Reaktion von Hühnern auf den Angriff eines potentiellen Fressfeindes (GALLUP et al., 1971; EDELAAR et al., 2012). Sie ist gekennzeichnet durch eine ausgeprägte, jedoch reversible Bewegungseinschränkung mit Reduktion der Reaktionsfähigkeit, die durch eine körperliche Anspannung bedingt ist. Diese vermeintliche Totenstarre soll das Interesse des Angreifers vermindern (EDELAAR et al., 2012). Die Dauer der tonischen Immobilität wird mit der psychischen Belastung in Zusammenhang gebracht und in der Wissenschaft als Stressindikator gewertet (FORKMAN et al., 2007). In der Studie von JONES et al. (1987) wurde aufgezeigt, dass Hühner, die eine chronische Erhöhung von zirkulierendem Corticosteron im Blut haben auch eine verlängerte tonische Immobilität zeigen. Beim TI werden die Masthühner gegriffen, in eine spezielle wiegeartige Apparatur auf den Rücken gelegt und für ca. 15 s dort festgehalten. Dann wird die Dauer der physiologischen Starre, also die Latenzzeit, bis zum Aufrichten der Masthühner gemessen. Aufgrund der körperlichen Konstitution und des Gewichts der Masthühner stellte der TI in der vorliegenden Studie eine zu hohe Belastung für die Masthühner dar, weil die Verweildauer auf dem Rücken teilweise sehr lang war (s. Abb. 2). Bei Masthühnern ist die Brustmuskulatur stark ausgebildet und dies hätte aufgrund des somit hohen Gewichts zu Atemdepression und folglich zum Tod der untersuchten Masthühner führen können. Der TI wurde daher aus Gründen des Tierschutzes aus der Versuchsplanung herausgenommen und durch zwei schonendere Verhaltenstests ersetzt, die in den Kapiteln 2.1.1 und 2.1.2 beschrieben werden.

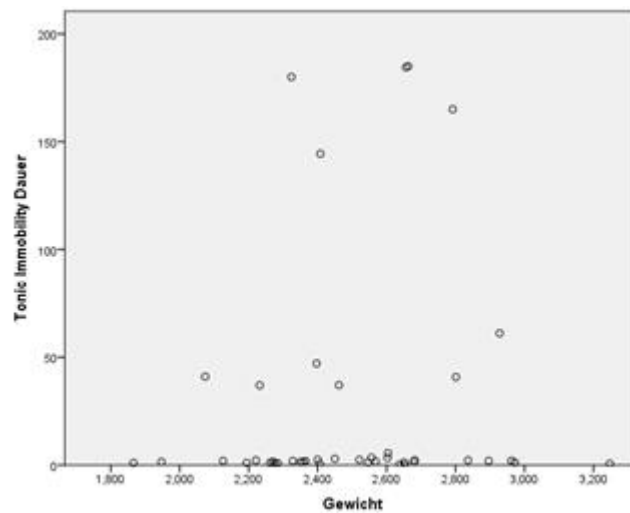


Abbildung 2: Darstellung der Dauer (s) der Tonic Immobility untersuchter Tiere im Vorversuch in Abhängigkeit vom Gewicht (g).

Am letzten Masttag wurden die Herden in möglichst standardisierter Weise getestet. Das Licht in den Stallgebäuden wurde auf circa 8 Lux (8,1 – 8,9 Lux) auf Kopfhöhe der Masthühner eingestellt. In der Zeit der Messung der Lichtintensität konnten sich die Hühner an die Präsenz der Untersucherin gewöhnen, ehe diese mit den Verhaltenstest begonnen hat. Eine Herde (Manuelle Verladung 6) wurde aus Sicherheitsgründen bei einem niedrigeren Luxwert (6,0 Lux) untersucht, da die Masthühner bereits bei diesen Lichtverhältnissen sehr unruhiges Verhalten gezeigt haben.

Die Untersucherin hat stets die gleiche Schutzkleidung getragen und sich, sofern es der Grundriss des Maststalls zugelassen hat, in standardisierter Weise durch den Stall bewegt. Dabei hat sie sich an der kurzen Seite des Stalls, in der Nähe der Tür aufgehalten, um den Masthühnern genug Raum zur Flucht zu bieten. Die Bewegungen wurden gleichmäßig und ruhig durchgeführt, damit die Hühner nicht in Panik geraten. Es wurde erst der Stationary Person Test (SPT) und danach der Avoidance Distance Touch Test (ADTT) durchgeführt.

2.1.1. Stationary Person Test

Mit dem SPT wurde die Approach Distance, die freiwillige Annäherung der Masthühner an die Untersucherin, ermittelt. Ziel dieses Tests war es zu erfassen, wie viele Masthühner sich während eines bestimmten Zeitintervalls der Untersucherin freiwillig nähern. Die Untersucherin verweilte dabei regungslos mit

dem Rücken zur Wand und filmte den Bereich vor ihren Füßen (s. Abb. 3). Der SPT wurde an drei Orten an der Stirnseite des Maststalls für je 2 min ausgeführt und aufgenommen. Anschließend wurden die Filme mithilfe des Computerprogramms Kinovea 0.8.15 (Kinovea, www.kinovea.org, Frankreich) ausgewertet. Die Anzahl der Masthühner, die sich in das eingeblendete Raster bewegt haben, wurde erfasst und ausgewertet. Bei einer hohen Anzahl sich freiwillig annähernder Masthühner wurde von einem niedrigen Nervositätslevel ausgegangen.



Abbildung 3: Ausschnitt aus einem Video des Stationary Person Test inklusive des Auswertungs-Rasters.

2.1.2. Avoidance Distance Touch Test

Der ADTT diente der Erfassung der Avoidance Distance (AD), also die maximale Entfernung bei der das Masthuhn versucht der Annäherung durch den Menschen auszuweichen. Wenn das Masthuhn seinen zweiten Fuß gehoben hat, wurde laut unserer Definition die AD erreicht.

Die Durchführung des ADTT war folgendermaßen: Die Untersucherin bewegte sich mit ruhigen Schritten durch den Stall und drehte sich nach jedem dritten Schritt entweder nach links oder rechts. Aus einer Entfernung von ungefähr 1,5 m wurde ein zufällig ausgewähltes Masthuhn angesteuert und versucht dieses am Rücken zu

berühren. Die linke Hand war am Körper anliegend, während die rechte Hand leicht ausgestreckt war. Wenn sich das Masthuhn berühren ließ, war die AD = 0 m. Die maximale AD war in diesem Versuchsaufbau 1,5 m. Die individuelle AD jedes untersuchten Masthuhns wurde in 10 cm Schritten geschätzt und notiert. Um die individuelle AD in einen für die Herde repräsentativen Wert übertragen zu können, wurden pro Herde 40 Masthühner getestet und der Durchschnitt berechnet. Bei einer hohen AD wurde von einem hohen Nervositätslevel ausgegangen.

2.1.3. Verhaltensbeobachtung während der Verladung

Während der Verladung der Masthühner wurde der Vorgang gefilmt, ohne den Ablauf dabei zu beeinträchtigen. Diese Videoaufnahmen wurden mit Hilfe eines erarbeiteten Ethogramms (s. Kap. IV Publiizierte Studienergebnisse, Table 2) unter Verwendung des Videoanalyse-Programms „Kinovea“ ausgewertet. Die Stichprobengröße für die einzelnen Parameter wurde nach Erstellung einer Power Analyse auf 1000 Masthühner pro Fangmethode festgelegt. Die Parameter „Flügelschlagen“ und „Fluchtverhalten“ wurden bei beiden Fangmethoden analysiert, die Parameter „Überschlag“ und „Anschlagen am Container“ nur für die Fangmaschine. Die Videoaufnahmen der manuell gefangenen Masthühner zeigten das Verhalten während des Greifens der Tiere sowie während des Aufhebens und Tragens bis zum Absetzen im Container. Pro Verladung wurde das Verhalten von 100 Masthühnern analysiert. Die 100 zu beobachtenden Masthühner wurden durch die Anzahl der Fänger einer Fangkolonne geteilt und pro Fänger die errechnete Anzahl an Masthühnern analysiert. Bei der Verladung mittels Fangmaschine war es aus bautechnischen Gründen nicht möglich ein Tier während der gesamten Verladung zu beobachten. Wie bereits erwähnt, bestand die Fangmaschine aus fünf Förderbändern, wobei das dritte und vierte Förderband als eines gewertet wurden. Um eine umfassende Analyse zu erhalten, wurden die fünf Förderbandwechsel (s. Abb. 4 und Abb. 5) als kritische Stellen betrachtet, da hier die Tiere bei Vorabbeobachtungen die meisten Reaktionen gezeigt haben. Bei jedem Förderbandwechsel wurde daher das Verhalten von je 100 Masthühnern beobachtet und ausgewertet. Allerdings haben die Masthühner nicht bei jedem Förderbandwechsel alle festgelegten Parameter gezeigt. Daher variierte die

Stichprobengröße bei der Fangmaschine zwischen 100 und 500 Masthühnern pro Parameter.

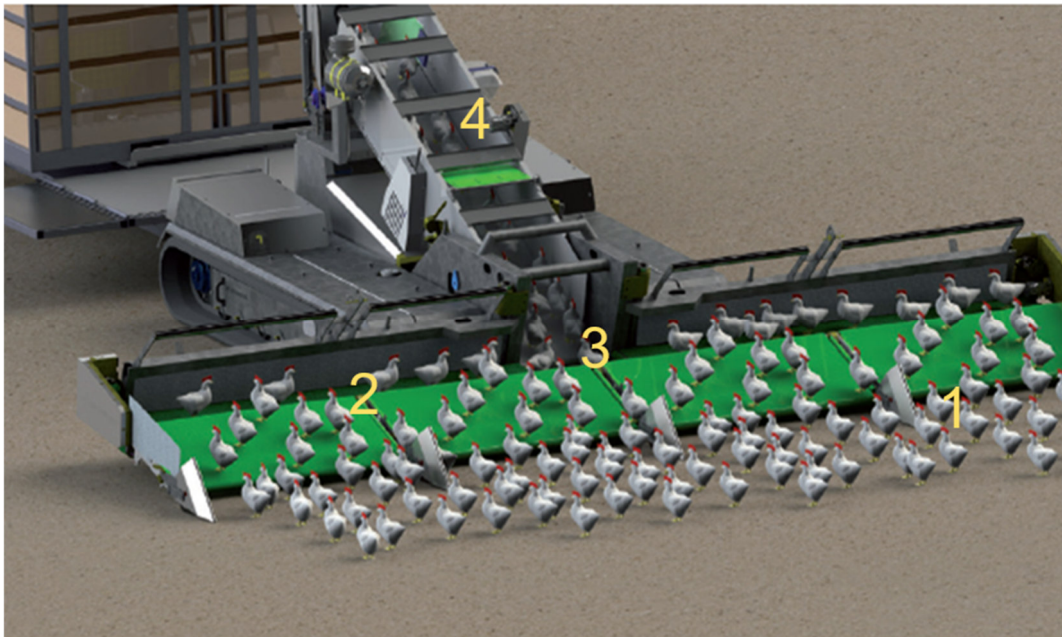


Abbildung 4: Darstellung des Fangkopf der Fangmaschine und der weiteren Förderbänder mit Positionsmarkierung (1-4) der Förderbandwechsel und damit der Verhaltensbeobachtungen (© CMC INDUSTRIES).

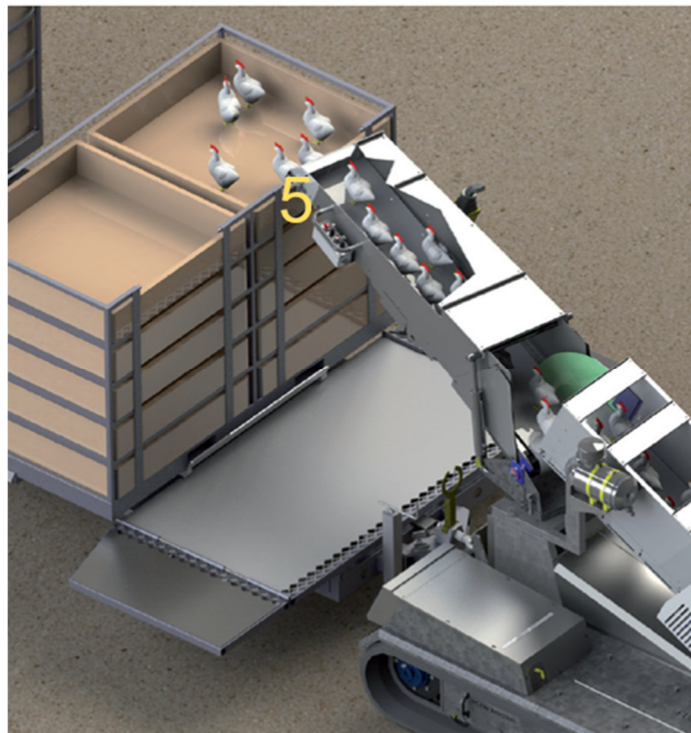


Abbildung 5: Darstellung des mit Containern beladenen Karussells, der Verladeplattform und des schwenkbaren Arms der Fangmaschine mit Positionsmarkierung (5) des Förderbandwechsel und damit der Verhaltensbeobachtungen (© CMC INDUSTRIES).

2.2. Blutuntersuchungen

Um den Einfluss der beiden Fangmethoden auf die Physiologie der Masthühner zu bestimmen, wurden folgende Blutparameter evaluiert:

- Cortisol
- Corticosteron
- H/L Ratio (Heterophile/Lymphozyten Ratio)

Für die Untersuchung der Blutparameter wurde Blut von mit CO₂ betäubten und anschließend geschlachteten Masthühnern mit Hilfe einer Edelstahlkelle gesammelt. Dies erfolgte direkt nach dem Entblutungsschnitt. Die Blutproben bestanden folglich aus arteriellem und venösem Mischblut. Es wurde jeweils das Blut von einem Einzeltier aufgefangen.

Aus den Ergebnissen der Cortisol, Corticosteron und H/L Ratio Analysen lagen somit stets Einzeltierwerte vor. Die Anzahl variierte je Verladung, da aus technischen Gründen nicht immer alle Proben auswertbar waren. Für die Untersuchungen der Cortisol- und Corticosteron-Werte variierte die Anzahl zwischen 12 und 14, für die H/L Ratio zwischen 6 und 20 Blutproben. Anschließend wurde für jede Herde aus den Einzeltierwerten der Mittelwert bestimmt, welcher der statistischen Auswertung diente. Für diese Studie wurden sowohl Corticosteron als auch Cortisol untersucht, um eine mögliche Korrelation aufzudecken.

2.2.1. Corticosteron und Cortisol

4 ml Blut wurden in mit Lithium-Heparin beschichtete Röhrchen (Fassungsvermögen 4 ml) überführt. Das Heparin verhinderte die Blutgerinnung. Pro Herde wurden 14 Proben genommen, welche noch am Schlachthof 10 min mit 2000 Umdrehungen/Minute in der Spectrafuge 6C der Firma Labnet zentrifugiert wurden. Im Anschluss wurde das Plasma abpipettiert und gekühlt bei ca. 4 °C in Eppendorf Gefäßen zum Lehrstuhl für Tierschutz, Tierhaltung, Verhaltenskunde und Tierhygiene verbracht, wo die weiteren Analysen stattgefunden haben.

Im Lehrstuhl-eigenen Labor wurden die Proben bis zur weiteren Bearbeitung eingefroren ($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$), um den Verlust der Bioaktivität und potentielle Kontamination zu vermeiden.

Zur invitro Bestimmung der quantitativen Cortisol- bzw. Corticosteron-Konzentration wurden ELISA Kits der Firma Elabscience Biotechnology Co., Ltd verwendet. Dieses Kompetitive-ELISA Kit (Katalognummer: E-EL-0030) hat einen Detektionsbereich von $12,5 - 800\text{ ng/ml}$ (Cortisol) beziehungsweise $3,13 - 200\text{ ng/ml}$ (Corticosteron). Laut Herstellerangabe sind keine signifikanten Kreuzreaktionen zwischen Cortisol bzw. Corticosteron und Analoga bekannt.

Die Durchführung der ELISA erfolgte folgendermaßen:

Vorbereitung der Reagenten:

1. Auftauen der Plasmaproben und Erwärmung der Reagenten auf Raumtemperatur ($18-25\text{ }^{\circ}\text{C}$)
2. Verdünnung des konzentrierten Waschpuffer mit deionisiertem oder destilliertem Wasser (1:25)
3. Herstellung einer Verdünnungsreihe des Referenzstandardwerts (Konzentration: $800\text{ ng/ml} - 400\text{ ng/ml} - 200\text{ ng/ml} - 100\text{ ng/ml} - 50\text{ ng/ml} - 25\text{ ng/ml} - 12,5\text{ ng/ml} - 0\text{ ng/ml}$)
4. Verdünnung des biotinyliertem Detektionsantikörper (1:100)
5. Verdünnung des konzentriertem HRP-Konjugats (1:100)

Durchführung der Analyse:

1. Pipettieren von $50\text{ }\mu\text{L}$ des Standards oder der Plasmaprobe in jede Vertiefung des ELISA-Kits
2. Pipettieren von $50\text{ }\mu\text{L}$ des biotinyliertem Detektionsantikörper in jede Vertiefung
3. Inkubation des Kits für 45 min bei $37\text{ }^{\circ}\text{C}$
4. Dreimaliges Absaugen und Waschen jeder Vertiefung mit dem Waschpuffer
5. Zufügen von $100\text{ }\mu\text{L}$ HRP-Konjugat in jede Vertiefung. Inkubation für 30 min bei $37\text{ }^{\circ}\text{C}$
6. Fünfmaliges Absaugen und Waschen

7. Zufügen von 90 μL Substrat-Reagenz in jede Vertiefung. Inkubation für 15 min bei 37 °C
8. Zufügen von 50 μL „Stopp“-Lösung in jede Vertiefung. Sofortige Bestimmung der optischen Dichte mit Hilfe eines Mikroplatten-Leser (450 nm)
9. Berechnung der Ergebnisse

2.2.2. H/L Ratio

1,2 ml von 20 weiteren Blutproben wurden in mit Kalium-EDTA beschichtete Röhrchen (Fassungsvermögen 2 ml) überführt. Das Kalium-EDTA verhinderte die Blutgerinnung. Die Blutproben wurden direkt nach dem Auffangen kontinuierlich geschwenkt. Hierdurch sollte ebenfalls die Gerinnung verhindert werden.

Die Proben wurden an den Lehrstuhl für Tierschutz, Tierhaltung, Verhaltenskunde und Tierhygiene transportiert. Im Lehrstuhl-eigenen Labor wurden die Proben innerhalb von 6 Stunden nach der Blutentnahme folgendermaßen fixiert:

1. Sanfte Durchmischung der ungekühlten Blutproben mit Hilfe eines Rotationsgeräts
2. Überführen von 400 μL EDTA-Blut mit Hilfe der „reverse pipetting“ Technik aus dem Röhrchen in ein 0,5 ml Reaktionsgefäß
3. Zufügen von 80 μL Fixierungslösung (TransFix® Reagent der Firma Cytomark) zum Blut in das 0,5 ml Reaktionsgefäß mit Hilfe der Technik „reverse pipetting“ ohne dabei das Blut mit der Pipettenspitze zu berühren
4. Reaktionsgefäß verschließen und vorsichtig vortexen, um eine vollständige Durchmischung von Blut und Fixierungslösung zu gewährleisten
5. Reaktionsgefäß kennzeichnen und bei Raumtemperatur aufbewahren

Die weiteren Analysen der Blutproben wurden im Institut für Tierphysiologie der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München durch Unterstützung von Frau PD Dr. med. vet. Sonja Härtle durchgeführt. Mittels einer am Institut von SELIGER et al. (2012) entwickelten durchflusszytometrischen Blutuntersuchung wurde der quantitative Gehalt weißer Blutkörperchen in den Hühnerblutproben ermittelt. Dafür wurden je 20 μL einer fixierten Probe mit einem

Färbepuffer 1:50 verdünnt. Im Anschluss wurden 50 µL der Verdünnung mit 20 µL Antikörperlösung in einem Trucount® Gefäß gemischt und 45 min im Dunkeln bei Raumtemperatur inkubiert. Anschließend wurden 400 µL Färbepuffer zu jeder Probe gegeben. Die Messungen wurden mit einem BD FACSCanto II (Becton Dickinson) durchgeführt und mit der BD FACS DIVA oder FlowJo (Tree Star Inc.) Software analysiert.

IV. PUBLIZIERTE STUDIENERGEBNISSE

Inga Wolff^a, Sandrina Klein^a, Elke Rauch^a, Michael Erhard^a, Julia Mönch^a, Sonja Härtle^b, Paul Schmidt^c, Helen Louton^{a*}

^a Chair of Animal Welfare, Animal Behaviour, Animal Hygiene and Animal Husbandry, Department of Veterinary Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, LMU Munich, Veterinärstr. 13/R, D-80539 München, Germany

^b Chair of Animal Physiology, Department of Veterinary Science, Faculty of Veterinary Medicine, LMU Munich, Veterinärstr. 13, D-80539 München, Germany

^c Paul Schmidt, Statistical Consulting for Science and Research, Zimmerstr. 10, D-76327 Pfinztal, Germany

Harvesting-induced stress in broilers: Comparison of a manual and a mechanical harvesting method under field conditions

Applied Animal Behaviour Science, accepted 23. September 2019

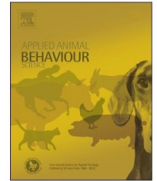
<https://doi.org/10.1016/j.applanim.2019.104877>

Impact factor: 1.817



Contents lists available at ScienceDirect

Applied Animal Behaviour Science

journal homepage: www.elsevier.com/locate/applanim

Harvesting-induced stress in broilers: Comparison of a manual and a mechanical harvesting method under field conditions

Inga Wolff^a, Sandrina Klein^a, Elke Rauch^a, Michael Erhard^a, Julia Mönch^a, Sonja Härtle^b, Paul Schmidt^c, Helen Louton^{a,*}

^a Chair of Animal Welfare, Animal Behaviour, Animal Hygiene and Animal Husbandry, Department of Veterinary Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, LMU Munich, Veterinärstr. 13/R, D-80539 München, Germany

^b Chair of Animal Physiology, Department of Veterinary Science, Faculty of Veterinary Medicine, LMU Munich, Veterinärstr. 13, D-80539 München, Germany

^c Paul Schmidt, Statistical Consulting for Science and Research, Große Seestraße 8, D-13086 Berlin, Germany

ARTICLE INFO

Keywords:

Broiler harvesting
Stress
Behaviour observation
Mechanical harvesting
Manual harvesting

ABSTRACT

Harvesting of broilers is a stressful event, whether done mechanically or manually. The use of harvesting machines might compromise animal welfare less than manual harvesting methods because it is less influenced by environmental and flock-specific factors. In this paper, a mechanical and a manual harvesting method are compared in regard to stress-induced behavioural and physiological reactions. The stationary person test and the avoidance distance touch test were applied before harvesting to estimate pre-treatment fear of humans in the flocks. We then recorded the behaviour of the flocks during harvesting and evaluated stress-induced behaviour such as wing flapping and escape behaviour. Furthermore, we took blood samples at the abattoir and analysed the corticosterone concentration and heterophil/lymphocyte ratio. In a statistical analysis, all assessed parameters were related to environmental and flock-specific factors, as well as to the risk of lesions such as haematomas and fractures. Our aim was to figure out if the use of a harvesting machine, in this case the Apollo Generation 2, puts less stress on broilers during harvesting than manual catching. The applied behaviour tests indicate the excitability and fear of humans of the flocks but are complex to interpret. Compared with mechanical harvesting, manual harvesting was more influenced by environmental and flock-specific factors such as average weight (odds ratio [OR] = 1.49; 95% confidence interval [CI] [1.11; 2.22]) or catching duration (OR = 1.79; 95% CI [1.44; 2.19]). The results verified a correlation between stress-induced behaviour and the occurrence of lesions. The risk for haematomas was influenced by escape behaviour during manual harvesting (OR = 1.07; 95% CI [1.02; 1.13]) and by bumps against the containers (OR = 1.06; 95% CI [1.05; 1.07]) and flips (OR = 6.23; 95% CI [3.99; 9.27]) during mechanical harvesting. The risk for fractures during mechanical harvesting was influenced by the occurrence of flips (OR = 2.74; 95% CI [1.07; 5.67]). The risk for wing flapping was twice as high during manual harvesting as during mechanical harvesting (OR = 2.11; 95% CI [1.82; 2.44]). The blood parameters showed no correlations with the initial behaviour test results and the assessed stress-induced behaviour during harvesting. Corticosterone concentration was strongly influenced by light intensity (beta = 3.75; 95% CI [2.55; 4.95]) and outdoor temperature (beta = 46.34; 95% CI [39.18; 53.27]) during manual harvesting. The results showed weak points of both harvesting methods, and we offer suggestions to improve animal welfare during harvesting.

1. Introduction

The overall increasing concern for animal welfare requires sustainable, economic and animal-friendly methods for modern livestock farming. Public pressure demands critical and scientifically based evaluation of the status quo (Delezie et al., 2007). Practices which are

known or perceived to be poor have to be replaced by practices which are genuinely better for animals (Walker et al., 2014). The mechanization of workflows is one aspect in this pursuit of improvement. In poultry production, the use of harvesting machines appears to compromise animal welfare less than manual harvesting because chicken were found to be less frightened after mechanical than after manual

Abbreviations: H/L ratio, heterophil/lymphocyteratio; SPT, stationary person test; ADTT, avoidance distance touch test; OR, odds ratio; CI, confidence interval

* Corresponding author.

E-mail addresses: h.louton@lmu.de, h.louton@tierhyg.vetmed.uni-muenchen.de (H. Louton).

<https://doi.org/10.1016/j.applanim.2019.104877>

Received 18 April 2019; Received in revised form 22 August 2019; Accepted 22 September 2019

0168-1591/© 2019 The Authors. Published by Elsevier B.V. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license

(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Please cite this article as: Inga Wolff, et al., Applied Animal Behaviour Science, <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2019.104877>

harvesting (Duncan et al., 1986). Fear-related reactions are characterized by physiological and behavioural reactions preparing the animal to deal with perceived danger (Forkman et al., 2007). Assuming that birds with a high level of fear will avoid a stressor by displaying a greater avoidance distance as well as showing less voluntary approach, behaviour tests can be a useful tool in welfare assessment (Graml et al., 2008a; Hakansson, 2015). Based on the definition of fear as ‘the psychophysiological response to perceived danger’ (Jones and Faure, 1981, p. 136), we propose that the observation of the behaviour shown by broilers during harvesting is a way to measure fear and therefore stress. ‘Although fear and stress are not synonymous, fear [...] is a vital component of stress response’ as Zulkifli et al. (1998, p. 753) concluded based on the work of Jones (1992).

Behaviour patterns observed during the harvesting of chicken are wing flapping, especially when the birds are carried in an inverted position, and flight (Kannan et al., 1997). These motions can be interpreted as an active avoidance behaviour expressing fear (Forkman et al., 2007; Kannan et al., 1997). Wing flapping can lead to bruises and fractures (Kannan et al., 1997), which are considered to cause pain and stress and therefore reduce animal welfare (Knierim and Gocke, 2003). The most commonly used physiological parameters to measure stress in poultry are the plasma corticosterone concentration and the peripheral blood heterophil/lymphocyte ratio (H/L ratio¹), with corticosterone being the principal adrenocortical glucocorticoid (Scanes, 2016; Wein et al., 2016). The secretion of glucocorticoids is a classic endocrine response to stress and exerts metabolic and immuno-modulatory effects such as influencing the circulating leucocytes (Goessling et al., 2015; Knowles and Broom, 1990; Sapolsky et al., 2000). In response to stressors, the number of lymphocytes decreases and the number of heterophils increases (Gross and Siegel, 1983); hence, the shift in the H/L ratio can be used as a stress marker. However, blood parameters alone cannot express the stress level because they are influenced by a variety of factors such as age, season, temperature, daytime, stocking density, health status, etc (Gantert, 2013; Lentfer et al., 2015; Scanes, 2016; Wein et al., 2016).

With regard to manual and mechanical catching techniques for the harvesting of poultry, the Council of Europe issued a recommendation in 1995 stating that the birds must be lifted by holding both legs (not just one) and must not be held upside down (European Commission, 1995), which are contradictory demands. Instead of catching chicken by one or two legs and carrying them in an inverted position, the catcher should hold them under the abdomen and carry them in an upright position (Kittelsen et al., 2018). However, in personal communication with poultry industry specialists, we learnt that more than two decades after the release of the recommendation, carrying of chicken in an inverted position and grabbing them by one leg are still common practice in manual harvesting (Anonymous, personal communication). Modern harvesting machines catch and transport chicken in an upright position and make direct handling unnecessary, thereby reducing stress during catching, resulting in fewer injuries and improved animal welfare (Duncan et al., 1986; Gocke, 2000; Knierim and Gocke, 2003; Lacy and Czarick, 1998).

The aim of this study was to investigate the assumed positive consequences of the use of the harvesting machine Apollo Generation 2. We initially conducted two behaviour tests on each flock to determine the underlying pre-treatment fear of humans in the flocks. The stress induced by manual and mechanical harvesting in broilers was compared by evaluating behavioural reactions during harvesting and blood parameters assessed at the abattoir. The correlation between the behavioural and physiological reactions was analysed to determine the influence of stress-induced behaviour on the blood system. Furthermore, we evaluated the relationship between the level of stress and the occurrence of lesions such as haematomas and fractures.

2. Materials and methods

2.1. Animals and farms

Subject of the investigation were conventionally fattened Ross 308 broiler chicken during harvesting. The investigation took place under field conditions on 17 broiler farms in southeastern Germany. The size of the farms varied from approximately 22,500 to 67,000 broilers per farm. Some farms had two separate stable buildings, and some stables consisted of up to eight separate pens. The smallest pen housed about 10,000 broilers. The pre-treatment behaviour tests and the behaviour observations during harvesting were done on 10 manually and 10 mechanically harvested flocks. The individual flock (one per farm on 14 farms, two per farm on three farms) functioned as the experimental unit. To assure comparability of the flocks, the farms included in the study had to fulfil the following criteria: distance abattoir to broiler farm maximum 130 km (maximum transport time 2 h); uniform waiting time at the abattoir (approximately 1 h); broiler breed Ross 308; closed farm with forced ventilation; harvesting method either mechanical with Apollo Generation 2 harvester (CMC Industries – Ciemmeccalabria S.r.l., Cazzago, Italy) or manual by specialized catcher teams with no familiar relation to the farm; fattening duration 38–40 days (final harvesting); stocking density up to 39 kg/m²; at least an ‘average health status of the flock’ (defined as maximal cumulative mortality rate of 5% and no antibiotic treatment within the last 10 days before testing). The range of distances varied from 2.6 km to 113.0 km, with an average of 54.5 km travelled. The mechanically harvested broilers were transported an average 67.3 km, the manually harvested broilers an average 44.1 km. The transport times ranged from 5 min to 1 h and 10 min, with an average of 46 min. The mechanically harvested broilers were transported for an average of 59 min, the manually harvested broilers for an average of 34 min. Nineteen out of 20 flocks were raised at a stocking density of 39 kg/m², whereas one flock was raised at a stocking density of 35 kg/m². The detailed information for each flock is listed in Table 1. The containers used in this study were the dump modules ‘GP live bird container supply system’ from the company Marel (Austurhraun 9, Gardabaer, IS-210 Iceland) and consisted of eight compartments in four layers. All tests were conducted between December 2016 and August 2017 and included a pre-treatment examination on the last fattening day and an assessment during the first two-thirds of the harvesting process. The investigation was part of a bigger study examining animal health, welfare, hygiene and economic aspects according to the broiler harvesting method and focused on the stress reactions and behaviour of the broilers. The results of the animal health, hygiene and economic aspects will be part of another publication presumably in 2020.

2.2. Test and observation procedures

The study had three stages. Initially, pre-treatment examinations were done using two different behaviour tests as well as calculating the pre-treatment average broiler weight of each flock by weighing 200 individual broilers with a Mettler Toledo ICS425 scale (Mettler Toledo GmbH, Gießen, Germany). These 200 broilers were examined by a veterinarian with respect to haematomas or fractures of the wings and legs and were marked with paint suitable for animals to prevent weighing and checking the same broiler twice. Before the behaviour tests, the light intensity was set to approximately 8 lx at the height of the broilers’ heads, and all flocks were tested at comparable light intensities. Secondly, film sequences were recorded during the harvesting process and evaluated regarding stress-induced behavioural changes in the broilers. A Sony Cyber-shot DSC-RX100 camera (Sony Europe Limited, Surrey, UK) was used to record the video sequences, and a

Table 1

Specific information on the flocks, environmental conditions during the loading and the catching procedures.

Flock	Number of loaded broilers	Fattening day	Average broiler weight g	Outdoor temperature °C	Light intensity (indoors) lx	Noise level dB	Duration of loading h	Distance to the abattoir km	Duration of transport min	Catching team	Number of catchers
Mech ^a 1	24,000	40	2,496	-4.3	0.23	81.13	4.25	74.5	65	n/a ³	3
Mech 2	67,355	40	2,527	-1.3	0.09	86.17	10.38	60.9	55	n/a	3
Mech 3	24,500	41	2,597	21.9	0.98	81.97	6.47	68.1	60	n/a	3
Mech 4	25,400	40	2,639	6.8	0.13	87.00	3.58	64.5	55	n/a	4
Mech 5	47,391	40	2,381	n/a	6.98	85.03	7.13	68.1	60	n/a	3
Mech 6	66,892	39	2,292	n/a	0.26	86.77	10.03	58.9	50	n/a	3
Mech 7	47,540	40	2,580	26.9	0.75	78.40	7.27	68.1	60	n/a	3
Mech 8	26,200	37	2,373	17.9	0.05	79.77	3.22	70.6	60	n/a	4
Mech 9	49,622	39	2,682	14.1	0.11	79.50	7.93	64.5	55	n/a	4
Mech 10	24,720	41	2,451	22.7	0.33	80.53	3.82	74.5	65	n/a	3
Mean	37,822	40	2,502	10.5	0.99	82.63	6.41	67.3	59	n/a	3.3
Man ^b 1	26,880	38	2,274	-11.2	0.06	74.40	4.77	13.6	15	1	7
Man 2	24,000	41	2,611	7.0	0.07	74.43	4.22	45.3	40	2	7
Man 3	30,995	39	2,324	8.2	0.25	76.50	4.97	2.6	5	3	10
Man 4	40,534	40	2,540	6.2	0.13	75.63	6.97	5.8	8	4	6
Man 5	18,500	42	2,732	n/a	0.20	75.27	3.75	98.6	70	5	8
Man 6	26,837	41	2,640	n/a	0.20	71.90	4.67	59.6	50	1	8
Man 7	54,000	40	2,734	30.4	7.96	70.10	9.55	26.7	30	6	7
Man 8	51,369	39	2,560	17.3	3.68	80.80	7.57	16.1	15	2	8
Man 9	31,250	39	2,606	24.0	5.71	76.57	5.72	35.5	35	1	7
Man 10	23,700	41	2,644	18.9	2.04	75.83	4.05	113.0	70	2	8
Mean	32,807	40	2,568	10.1	2.03	75.14	5.62	44.1	34	n/a	7.6

n/a = Not applicable.

^a Mech = Mechanical harvesting.^b Man = Manual harvesting.

NITECORE flashlight (SYSMAX Innovations Co., Ltd., Guangdong, China) of the type Chameleon CB6 (green light) was used to ensure light visible to humans for the assessment of the video material without distraction of the broilers. During manual harvesting, every catcher was filmed individually and the same number of broilers assessed for each catcher on the behaviour reactions wing flapping and escape behaviour. The requirement of catching the broilers by both legs was controlled, and if necessary, the catchers were admonished to comply. During mechanical harvesting, every transition of loading belts was filmed several times to assure a broad distribution of observed broilers per flock because several videos were used to assess each critical point. The behaviour reactions wing flapping, escape behaviour, flip and bump were each evaluated for 100 broilers per critical point. The films were analysed using the computer programme Kinovea 0.8.15 (Kinovea, www.kinovea.org, France) and were watched at reduced speed. During the harvesting process, further investigations on stress-influencing parameters, hygiene and health status were done including the assessment of haematomas and severe lesions such as fractures and luxation of the wings and legs; these additional parameters were assessed for the number of broilers loaded in two containers (428–534 broilers per flock). The number of broilers loaded in one container varied due to the integrated weighing system in the container module, which adjusted the stocking density automatically. Furthermore, the broilers of one of these containers (approximately 250 broilers per flock) were manually weighed with the same scale as used in the pre-treatment examination, and the average broiler weight of the flock at the time of loading was calculated. During the loadings, the light intensity (LMT Pocket-Lux 2B, LMT Lichtmesstechnik GmbH, Berlin, Germany) and the noise level (Sound Level Meter, PCE 322A, PCE Instruments UK Ltd, UK) were measured three times during the loading at head level of the broilers. The duration of the whole loading procedure was written down and the average catching duration (time needed to place one broiler from the ground into a container) either calculated by the speed and length of the loading belts (mechanical harvesting, measured three times during the loading) or by tracking how long it took a catcher to pick up, carry and place a broiler in a container (manual harvesting, eight

measurements). The outdoor temperature was measured during the whole procedure by using a data logger (LogBox RHT, B + B Thermo-Technik GmbH, Donaueschingen, Germany). The measured data are listed in Table 1. Thirdly, blood samples were taken at the poultry abattoir (Donautal Geflügelspezialitäten Zweigniederlassung der Lohmann & Co. KG, Bogen, Germany) after carbon dioxide stunning and during de-bleeding.

All tests and observations were performed and evaluated by the same person, who before testing was unfamiliar to all test broilers. The female investigator wore a dark-blue overall, shoe covers, security gloves and protective goggles.

2.2.1. Pre-treatment examinations

Two behaviour tests were performed to determine the underlying fear of humans in each flock by recording the approach and avoidance distance of the tested broilers. Each flock was tested at a light intensity ranging from 8.1 lx to 8.9 lx to minimize the influence of the light intensity and time of day. In every stable, the light intensity was checked with a Pocket-Lux 2 illuminance meter (LMT Lichtmesstechnik GmbH, Berlin, Germany) based on a six-sided measurement and adjusted before carrying out the tests. These measurements and adjustments were carried out directly after the investigator entered the stable through the door usually located at the front of the stable. The investigator moved very slowly to prevent stressing the broilers until they had acclimated to the new situation. The numbers of broilers assessed in the stationary person test (SPT²) and the avoidance distance touch test (ADTT³) were used to calculate an average. A high value of the average means that a great number of broilers voluntarily approached the observer (in the SPT) or showed no avoidance of the approaching observer (in the ADTT). The test procedures were in line with the work published by Graml et al. (2008b).

2.2.1.1. Stationary person test. The aim of the SPT was to define the approach distance of the broilers. The investigator stood still for 2 min, filming the area in front of her feet and holding the camera at chest height approximately 125 cm above the ground. The filming took place

on three spots on the ground along the short wall of the stable. If the layout of the stable allowed, the spots were chosen in a standardized order starting next to the door located at the left or right side of the short wall, then moving at moderate speed toward the centre of the short wall and finally crossing over to the opposite side of the short wall. The films were analysed using the computer programme Kinovea 0.8.15 by counting the numbers of broilers voluntarily approaching an accurately defined virtual box in front of the observer's feet. This box was a pre-set feature of the computer programme. Its outer lines marked an area of about 1.0 m by 0.5 m on the ground, which was estimated by the width of the observer's feet in the video. The results were then divided by three to minimize the influence of the location of the spot where the filming took place and get an average number of approaching broilers for the flock.

2.2.1.2. Avoidance distance touch test. The ADTT evaluated a forceful approach on 40 broilers of each flock. The investigator walked with an approximate speed of two steps per second through the stable and every fifth step turned either right or left. She then randomly selected a broiler within a distance of 1.5 m and approached it by bending the torso with one hand stretched out to touch the broiler. The test had two possible outcomes: the approached broiler was touched (avoidance distance of 0), or it moved away before being touched. In the latter case, the distance between the investigator's hand and the spot where the broiler was before moving away was estimated in increments of 10 cm. The average number of touched broilers was calculated as well as the mean avoidance distance.

2.2.2. Behaviour observation

The harvesting processes of the manual and mechanical methods were filmed without interrupting the catchers and machine conductors. The films were evaluated with the Kinovea programme using a self-made ethogram. The behaviour patterns defined in Table 2 (approach behaviour, escape behaviour, wing flapping, flip, bump) were analysed by behaviour sampling (Martin and Bateson, 2007). The term behaviour sampling by Martin and Bateson (2007) describes the used sampling method most appropriately. This method is applicable if one is interested in a specific behaviour rather than the overall activity of an individual or a group. Recording rules are separated into continuous recording and time sampling (Martin and Bateson, 2007). Time sampling can be subdivided into instantaneous and one-zero sampling. In one-zero sampling, it is recorded whether or not the behaviour pattern occurred during the preceding sampling interval. The recording rule used in our study can best be assigned to the one-zero sampling method of Martin and Bateson (2007). We slightly modified the sampling method to adapt it to our study. The behaviour was time sampled, the timeframe was defined as 'time to analyse the behaviour reactions of 100 individual broilers at passing one of the five transitions of loading

belts in mechanical loading or while being manually caught and carried from the ground to the container'. If a broiler showed a behaviour pattern, it was counted as one occurrence. The number of occurrences was used to calculate the average number of broilers showing the behaviour pattern. The behaviour patterns wing flapping and escape behaviour were analysed for both methods, the behaviour patterns flip and bump against the container only for mechanical harvesting because they scarcely occurred during manual harvesting with too few occurrences to analyse them statistically.

The loadings of 10 flocks per method were observed, and the behaviour of 100 randomly chosen broilers was analysed at each loading. The manual loading was conducted by specialized catcher teams of six to ten persons without relation to the farm. Six catching teams with varying personnel took part in this investigation. Two catching teams were involved in three loadings and four catching teams in one loading each. The personnel of each catching team varied between the loadings. The teams were divided into two groups, so the broilers were put in two containers at the same time resulting in an evenly forward-moving catching line from one end of the stable to the other. The containers were set down as close as possible to the catching line to keep the distance the broilers were carried as short as possible. According to the German guideline about broiler production (Federal Ministry of Food and Agriculture, 2012), the catchers had to comply with the requirement of catching the broilers by both legs. Of the evaluated 100 broilers, the number of broilers one catcher was carrying at once to the container varied from two to five.

The machine used in the study was the Apollo Generation 2 (CMC Industries – Cimmecablabria S.r.l., Cazzago, Italy). This harvester is navigated lengthwise through the stable. Depending on the width of the stable, the machine has to move through the stable in two or three lines. Three to four conductors are needed to operate the machine. The broilers are loaded in an upright position and deposited into the container with no direct contact to humans (Fig. 1).

Whereas other harvesting machines (e.g. Chicken Cat) use flexible rubber-fingered rotors to lift the broilers onto the loading belts, the Apollo Generation 2 simply scoops them with the front collection head as the harvesting machine is slowly moving forward. The broilers are then automatically transported through the central tunnel of the machine via loading belts. The caging area consists of a moveable loading belt that can be lowered or raised as well as moved nearer or further by the operator to deposit the broilers gently into the container. The container carousel has an integrated weighing scale and can be rotated for loading and unloading of the container by a forklift (Fig. 2).

The Apollo Generation 2 consists of five loading belts, and the broilers have to pass six transitions from the ground until being placed into the containers: first transition (ground to first loading belt), second transition (first to second loading belt, including a change of direction), third transition (second to third loading belt, including a change of

Table 2

Definition and categorization of the observed behaviour patterns used for the assessment of the behaviour during the behavioural tests and for the evaluation of the recorded videos.

Behaviour pattern	Definition
Approach behaviour	Broiler voluntarily moves (both feet lifted off the ground) in the direction of the experimenter, even picking her feet; evaluated only for the stationary person test
Wing flapping	Broiler spreads the wings and moves them up and down at least twice
Escape behaviour	Broiler moves (both feet lifted off the ground) away from the stressor (e.g. experimenter, catcher, harvester), motion varies from slowly walking to flying
Flip	Broiler flips over and ends up lying on its back due to pressure from other broilers or the harvester; evaluated only during mechanical loading, except for the fifth critical point (i.e. sixth transition) of the harvester
Bump	Broiler bumps against the container; evaluated only during mechanical loading, at the fifth critical point (i.e. sixth transition) of the harvester
Category	Definition
Stress-induced behaviour	Broiler shows the behaviour as response to a stressful event (harvesting machine, manual catcher) in order to cope with it or to avoid it
Active behaviour	Behaviour pattern is actively displayed by the broiler and without external pressure (wing flapping, escape behaviour)
Passive behaviour	Behaviour pattern is the result of external pressure on the broiler (flip and bump)



Fig. 1. The CMC Apollo Generation 2 (CMC Industries – Ciemmeclabria S.r.l., Cazzago, Italy) front collection head at the moment of loading broilers in a darkened stable.



Fig. 2. The CMC Apollo Generation 2 (CMC Industries – Ciemmeclabria S.r.l., Cazzago, Italy) caging area with the container carousel while depositing the broilers.

direction), fourth transition (third to fourth loading belt), fifth transition (fourth to fifth loading belt) and sixth transition (fifth loading belt into the containers). These transitions were identified as critical points, except the fourth transition. The catching duration of mechanical harvesting was calculated by the speed and length of the loading belts. It was not possible to measure the speed of the third loading belt without disturbing the harvesting process. For the calculation of the catching duration it was therefore assumed that the third and the fourth loading belt had an equal speed and the length of the third and the fourth loading belts were summed up. Not every behaviour pattern was shown at each critical point, and the distribution of assessment is described in Table 3. If shown, the behaviour of the broilers was separately assessed in 100 broilers for each critical point. Wing flapping could be observed at all critical points, escape behaviour and flip at all except the fifth critical point and bump only at the fifth critical point (i.e. sixth transition). The behaviour pattern wing flapping was furthermore examined

Table 3

Distribution of the behaviour patterns shown at the transitions of the harvesting machine and calculation of the sample size. Numbers are the numbers of broilers assessed (n/a = not assessed).

	Wing flapping	Escape behaviour	Flip	Bump
1st transition	100	100	100	n/a
2nd transition	100	100	100	n/a
3rd transition	100	100	100	n/a
5th transition	100	100	100	n/a
6th transition	100	n/a	n/a	100
Sample size	500	400	400	100

on its moment of occurrence. The three possibilities for the occurrence of wing flapping were: loading belt is running, loading belt is standing still or loading belt is either stopping or starting.

2.2.3. Blood samples

Blood samples were taken to determine the effect of the harvesting process on the physiology of the broilers. Plasma was examined considering the concentration of corticosterone (14 samples per flock), and the H/L ratio was determined from full blood samples (20 samples per flock). The samples were taken after carbon dioxide stunning during the de-bleeding process at the abattoir. The broilers were hanging on the shackling line, their throat was cut open just before sampling and the dripping blood was collected with a stainless steel scoop. Therefore, no direct handling of the living broilers was needed. We assumed that the stress induced by transport and stunning would influence the blood parameters. To keep this influence as little as possible, we only included farms with a maximum distance of 130 km between farm and abattoir and kept the range of distance similar between the two treatment groups. The blood samples consisted of a mixture of arterial and venous blood of an individual broiler. Due to technical difficulties, the number of analysed blood samples varied between the flocks. The obtained values were therefore used to calculate the mean to assure the comparability between the flocks. The variation of values was accounted for in the statistical analysis. Because corticosterone concentrations and H/L ratios were measured in arteriovenous blood samples, the results can only be compared between the flocks of this study but not with values given in the literature.

2.2.3.1. Corticosterone. Fourteen individual broilers of each flock were sampled, and 4 ml of blood were filled in lithium heparin tubes. The tubes were centrifuged for 10 min with a spinning speed of 2000 rounds per minute in a Spectrafuge 6C (Labnet International, Inc., Edison, New Jersey, USA), and the plasma was then transferred into clean, uncoated centrifuge tubes (Eppendorf AG, Hamburg, Germany). The plasma samples were transported to the Chair of Animal Welfare, Animal Behaviour, Animal Hygiene and Animal Husbandry, Department of Veterinary Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, LMU Munich, Germany, where the analysis of the blood plasma samples took place. Until testing, the samples were frozen and stored at -20°C . For in-vitro analysis of the quantitative concentration of corticosterone, a commercial sandwich enzyme-linked immunosorbent assay kit (DetectX[®] Corticosterone Immunoassay kit, Arbor Assays, Ann Arbor, Michigan, USA) was used.

2.2.3.2. H/L ratio. Twenty samples containing 1.2 ml of blood were collected from each flock in a scoop and individually transferred into tubes coated with potassium ethylenediaminetetraacetic acid. After collecting, the tubes were continuously swirled for at least 5 min and then transported at 20°C to the Chair of Animal Welfare, Animal Behaviour, Animal Hygiene and Animal Husbandry, Department of Veterinary Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, LMU Munich, Germany. The samples were stabilized with TransFix[®] reagent (Cytomark, Buckingham, UK) and then brought to the Department of Physiology of the same faculty. For quantification of the H/L ratios, a special rapid high-precision flow cytometry technique as described by Seliger et al. (2012) was used.

2.3. Statistical analysis

The statistical analysis included the analysis of binomially distributed (behavioural parameters) and continuous response variables (blood parameters). After an extensive exploratory data analysis using graphs and correlation coefficients (Pearson), the effects of selected independent variables were analysed simultaneously using regression models. Logistic regression models were used for all binomially distributed response variables and linear regression models for all

continuous response variables. The set of selected independent variables contained experimental design factors (harvesting type), predictors of interest (SPT, ADTT, average weight, duration of loading, catching duration) and environmental conditions (light intensity, noise level, outdoor temperature, fattening day). To compare the effects of these variables within and between harvesting methods, the corresponding interactions were included. All of these variables were modelled as ordinary fixed effects. To account for heterogeneity among farms (the 20 flocks were raised on 17 farms), the farm identity number was considered as an unstructured random effect within (generalized) linear mixed models. In all models, the standard errors of this random effect were estimated close to zero and the standard errors of the corresponding coefficients were too large to confirm heterogeneity between farms in the data. Therefore, we chose the more parsimonious models, i.e. the models without random effects for the farms. All regression models were estimated in a fully Bayesian way using the integrated nested Laplace approximation approach (Rue et al., 2009) within the R statistical programming language (R Core Team, 2018). For all regression coefficients and variance parameters, weakly informative prior distributions were chosen, i.e. zero-centred normal distribution with variance set to 10,000 for regression coefficients and log-Gamma distributions with shape and rate parameters set to 1 and 0.00005 for all variance parameters. Results were presented as odds ratios (OR; binomial responses) and regression coefficients (continuous responses). Following the ASA's recent statement on p-values (Wasserstein and Lazar, 2016) and the discussion therein (McShane and Gal, 2017), we decided to follow an approach that emphasizes estimation over testing, i.e. hypotheses are identified by parameters within a specific regression model by using a fully Bayesian estimation. In this approach, statements about hypotheses of interest are based solely on the direction of an effect, its size and its precision. Results are

statistically significant when the precision of an estimate is so high that the effect points in a clear direction. In this paper, the size of an effect is measured by its posterior mean, its direction is given by the estimated sign and its precision is represented by its 95% posterior intervals (credible interval, CI). In addition, a mediation analysis was performed to investigate two competing hypotheses. The first hypothesis assumed a direct relationship between catching duration and the occurrence of haematomas. The second hypothesis expected that this relationship is reflected by the occurrence of bumps, i.e. that the occurrence of bumps acts as a mediator. Mediation analysis splits the total effect of catching duration on the occurrence of haematomas into a direct effect and a mediation effect. The two hypotheses can then be compared based on the size of the effects. For this analysis, we used the quasi-Bayesian approach by Imai and Yamamoto (2013) implemented in the R package mediation (Tingley et al., 2014).

Sample size for the study was calculated by a power analysis during the preparation of the study. Based on the results of previously tested flocks, the probability of behaviour occurrence was set to 0.50 (conservative), 0.80 (realistic) and 0.95 (liberal). Biologically relevant differences in the probability of behaviour occurrence were analysed in the range of 0.01 to 0.15. A sample size of 1000 broilers per behaviour pattern was found sufficient.

3. Results

The observed behavioural and physiological reactions to testing and harvesting of the individual flocks are summarized in Table 4.

3.1. Pre-treatment examinations

The flocks varied considerably in their behavioural reactions to the

Table 4
Overview of results of the behavioural tests, behaviour observations and blood parameters (n/a = not assessed).

Flock	ADTT ^a	ADTT	AD ^b	SPT ^c	Wing flapping	Wing flapping	EB ^d	EB	Bump	Flip	Flip	Corticosterone	H/L ratio ^e
	n = 40	n = 40	n = 40		n _{Mech} = 500 n _{Man} = 100		n _{Mech} = 400 n _{Man} = 100		n = 100	n = 400		n = 2–14	n = 6–20
	(n touched) total	(%) total	(m) total	(n observed) mean	(n flapping) total	(%) total	(n escaping) total	(%) total	(%) total	(n flipped) total	(%) total	(ng/mL) mean	mean
Mech ^f 1	11	27.5	0.5	3.3	240	48.0	46	11.5	9	2	0.5	26.73	1.18
Mech 2	12	30.0	0.2	0.7	259	51.8	45	11.3	28	0	0.0	10.58	1.01
Mech 3	23	60.0	0.6	8.3	282	56.4	36	9.0	11	2	0.5	24.07	0.94
Mech 4	18	45.0	0.8	2.0	250	50.0	44	11.0	16	2	0.5	30.88	0.79
Mech 5	13	32.5	0.7	0.7	245	49.0	28	7.0	10	0	0.0	19.98	1.60
Mech 6	15	37.5	0.7	4.0	272	54.4	37	9.3	8	1	0.3	28.68	2.19
Mech 7	15	37.5	0.7	6.3	282	56.4	42	10.5	13	1	0.3	26.42	0.91
Mech 8	11	27.5	0.7	1.3	254	50.8	29	7.3	12	0	0.0	19.10	1.24
Mech 9	22	57.5	0.6	4.0	233	46.6	17	4.3	24	0	0.0	28.01	1.51
Mech 10	32	80.0	0.5	2.7	230	46.0	64	16.0	14	2	0.5	19.95	1.66
Mean	17	43.5	0.6	3.3	254.7	50.9	38.8	9.7	14.5	1	0.3	23.44	1.30
Man ^g 1	39	97.5	0.2	0.7	90	90.0	0	0.0	n/a	n/a	n/a	19.74	1.02
Man 2	26	65.0	0.5	4.7	80	80.0	15	15.0	n/a	n/a	n/a	15.25	0.80
Man 3	24	60.0	0.8	1.7	24	24.0	3	3.0	n/a	n/a	n/a	24.49	1.07
Man 4	21	52.5	0.6	2.3	66	66.0	3	3.0	n/a	n/a	n/a	23.76	1.43
Man 5	28	70.0	0.4	3.0	60	60.0	7	7.0	n/a	n/a	n/a	19.53	1.09
Man 6	36	90.0	0.30	2.7	64	64.0	4	4.0	n/a	n/a	n/a	25.04	1.21
Man 7	29	72.5	0.3	1.7	85	85.0	10	10.0	n/a	n/a	n/a	51.74	1.43
Man 8	3	7.5	1.3	0.0	68	68.0	13	13.0	n/a	n/a	n/a	31.00	1.23
Man 9	19	47.5	0.7	0.3	75	75.0	9	9.0	n/a	n/a	n/a	41.58	1.08
Man 10	7	17.5	0.7	0.0	74	74.0	8	8.0	n/a	n/a	n/a	23.37	1.30
Mean	23	58.0	0.6	1.7	68.6	68.6	7.2	7.2	n/a	n/a	n/a	27.55	1.16

^a ADTT = Avoidance distance touch test.

^b AD = Avoidance distance.

^c SPT = Stationary person test.

^d EB = Escape behavior.

^e H/L ratio = Heterophile/lymphocyte ratio.

^f Mech = Mechanical harvesting.

^g Man = Manual harvesting.

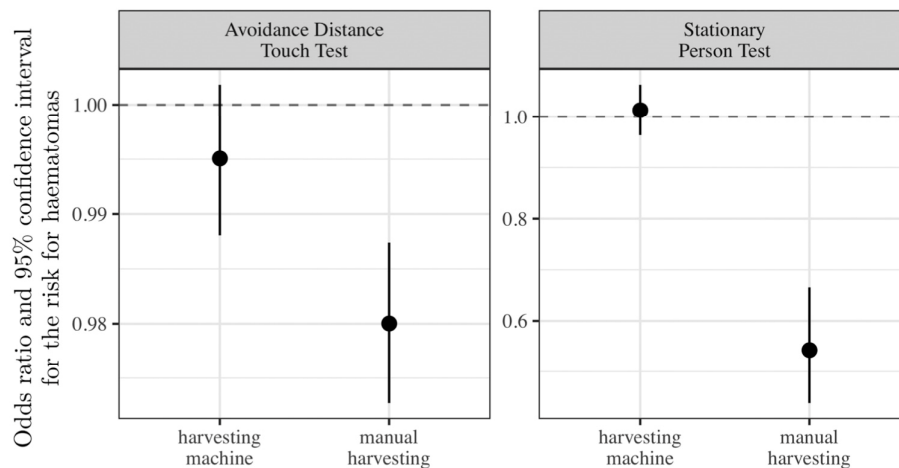


Fig. 3. Correlation between the results of the pre-treatment examinations and the risk for haematomas. Diagram showing the odds ratio and the 95% confidence interval for a correlation between the results of the avoidance distance touch test and the stationary person test to the risk for haematomas. Estimated effects above 1 indicate an increase in the risk for haematomas, whereas estimated effects below 1 indicate a decreased risk.

tests, which were conducted on the last fattening day before harvesting. Therefore, the harvesting method could not have an influence on the ADTT and SPT. The results of the ADTT varied between 7.5% and 97.5% of touched broilers and between 0.02 m and 1.30 m average flight distance (avoidance distance) (Table 4). The results of the SPT varied between 0.00 and 8.30 approaching broilers (mean) (Table 4). The flock (flock 8 of the manual treatment group) with the lowest percentage of touched broilers in the ADTT showed the greatest avoidance distance and the smallest number of approaching broilers in the SPT. The investigated parameters (age of the parental flocks, mortality rate, fattening day and average broiler weight of the flock) had no statistically verified effect on the outcome of the tests. The verified effects of the SPT and ADTT on the observed behaviours are presented in Sections 3.2.1 and 3.2.2. High values of outcomes of the SPT (OR = 0.54; 95% CI [0.44; 0.67]) and ADTT (OR = 0.98; 95% CI [0.97; 0.99]) significantly reduced the risk for haematomas during manual harvesting (Fig. 3).

3.2. Behaviour observation during harvesting

3.2.1. Wing flapping

The comparability of the risk for wing flapping between the two harvesting methods is limited because the observation methods were quite different due to technical circumstances. A manually caught broiler was observed during the full harvesting procedure whereas a mechanically harvested one was only observed passing one of the six major transitions, which were defined as critical points (except the fourth transition). It was not possible to observe a broiler pass all six transitions. Therefore, the calculated average of wing flapping broilers does not fully represent the risk for wing flapping in mechanical harvesting. However, this limitation does not hinder the analysis of possible factors that could influence the occurrence of wing flapping.

The risk for wing flapping in mechanically harvested flocks varied from 46.0% to 56.4% when the results for the five observed major transitions were summed up (Table 4). The mean risk for wing flapping in the first transition (ground to first loading belt) was 25.3%, in the second transition (first to second loading belt) 77.4%, in the third transition (second to third loading belt) 41.2%, in the fifth transition (fourth to fifth loading belt) 36.5% and in the sixth transition (fifth loading belt to container) 74.3%. The risk was highest in the second transition. The mean risk for wing flapping was 31.9% when the loading belt was running, 1.2% when the loading belt was standing still and 11.7% when the loading belt was starting or stopping. The effect of the moment of occurrence was highest in the second transition, with 51.0% wing flapping on a running loading belt, 2.2% on a still-standing loading belt and 23.2% on a starting or stopping loading belt.

Great numbers of voluntarily approaching broilers (in the SPT) (OR = 1.07; 95% CI [1.01; 1.13]) and large percentages of touched broilers (in the ADTT) (OR = 1.02; 95% CI [1.00; 1.03]) led to an elevated risk for wing flapping in mechanical harvesting. In manually harvested flocks, the risk for wing flapping varied from 24.0% to 90.0%. The risk for wing flapping in manual harvesting was increased with increasing catching duration measured as the time (s) needed for transporting a broiler from the ground into the container (OR = 1.79; 95% CI [1.44; 2.19]) and with increasing average broiler weight of the flock (calculated in increments of 100 g) (OR = 1.49; 95% CI [1.11; 2.22]), and was reduced with advancing fattening day (OR = 0.72; 95% CI [0.51; 1.00]). Comparing the different techniques for manual harvesting (one broiler per hand, two broilers per hand, three broilers per hand and holding under abdomen), we observed significant effects of the technique on the risk for wing flapping (Fig. 4). The manual catching technique was not imposed on the catching teams because they were observed doing their routine work. The technique 'one broiler per hand' had by far the highest probability for wing flapping (OR = 0.61; 95% CI [0.58; 0.64]). The technique 'two broilers per hand' had the second highest, but much lower, probability (OR = 1.00; 95% CI [0.08; 0.12]). The techniques 'three broilers per hand' (OR = 0.01; 95% CI [0.00; 0.02]) and 'holding under abdomen' (OR = 0.01; 95% CI [0.00; 0.01]) had comparable probabilities. The

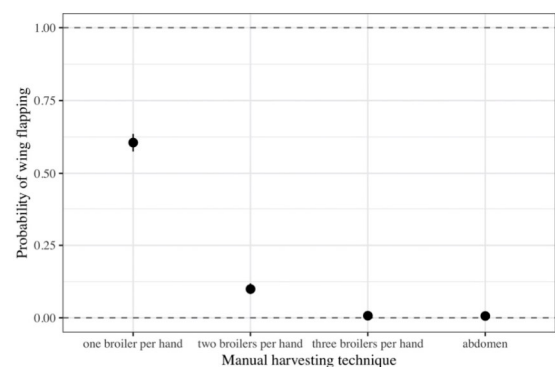


Fig. 4. Probability of wing flapping depending on the manual harvesting technique. Diagram showing the probability of wing flapping for four manual harvesting techniques. The technique 'one broiler per hand' by far has the highest probability of flapping (odds ratio [OR] = 0.61; 95% confidence interval [CI] [0.58; 0.64]). Second highest but much lower probability has the technique 'two broilers per hand' (OR = 0.10; 95% CI [0.08; 0.12]). The techniques 'three broilers per hand' (OR = 0.01; 95% CI [0.00; 0.02]) and 'abdomen' (OR = 0.01; 95% CI [0.00; 0.01]) have comparable probabilities.

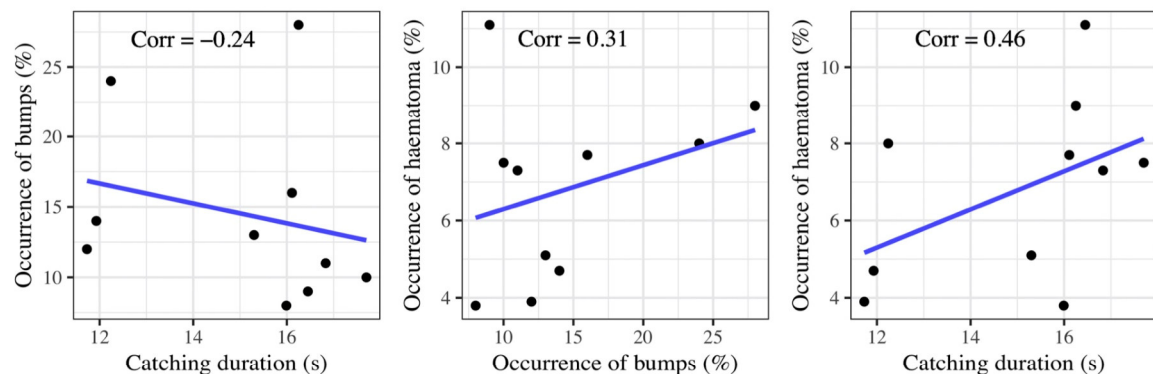


Fig. 5. Scatter diagrams showing the correlations between the catching duration, the occurrence of bumps and the occurrence of haematomas. The left and middle diagrams show that the extension of the catching duration reduces the occurrence of bumps ($\text{Corr}^1 = -0.24$) and that the occurrence of bumps positively correlates with the occurrence of haematomas ($\text{Corr} = 0.31$), respectively. The right diagram shows the direct effect of the catching duration on the occurrence of haematomas ($\text{Corr} = 0.46$). These scatter diagrams were used for an explorative start of the mediation analysis.

great majority of broilers was caught with the 'one broiler per hand' technique.

3.2.2. Escape behaviour

The risk for escape behaviour was 43.0% lower in manual harvesting compared with mechanical harvesting ($\text{OR} = 0.73$; 95% CI [0.55; 0.93]). The mean observed escape behaviour was 7.2% in manually harvested flocks and 9.7% in mechanically harvested flocks. A great number of touched broilers in the ADTT reduced the risk for escape behaviour during manual harvesting ($\text{OR} = 0.98$; 95% CI [0.96; 1.00]). The risk for escape behaviour in mechanically harvested broilers decreased with increasing average broiler weight of the flock ($\text{OR} = 1.00$; 95% CI [1.00; 1.00]) and increasing light intensity ($\text{OR} = 0.87$; 95% CI [0.79; 0.96]), but increased with advancing fattening day ($\text{OR} = 1.60$; 95% CI [1.24; 2.04]). Rising numbers of broilers showing escape behaviour led to a higher risk for haematomas in manually harvested broilers ($\text{OR} = 1.07$; 95% CI [1.02; 1.13]).

3.2.3. Bumps and flips

The response variables bump and flip could only be recorded for mechanical harvesting. Bumps were observed in 8.0%–28.0% and flips in 0.0%–0.5% of the broilers (Table 4). The catching duration had significant effect on the risk for bumps. The longer the catching duration, which was calculated by the speed and length of the loading belts, the lower was the risk for bumps ($\text{OR} = 0.95$; 95% CI [0.90; 0.99]). The mean recorded speeds of the loading belts were: first loading belt 0.19 m/s, second loading belt 0.57 m/s, fourth loading belt 1.13 m/s and fifth loading belt 1.34 m/s. The risk for haematomas increased with an increase in the occurrence of bumps ($\text{OR} = 1.06$; 95% CI [1.05; 1.07]) and flips ($\text{OR} = 6.23$; 95% CI [3.99; 9.27]) and with an increase in the catching duration ($\text{OR} = 1.02$; 95% CI [1.01; 1.03]). The risk for haematomas was found to be indirectly (longer catching duration – fewer bumps – fewer haematomas) reduced but directly (longer catching duration – more haematomas) increased by the speed of the loading belts (Fig. 5). The results of the mediation analysis favour the direct relationship between catching duration and haematomas. For the direct effect, an OR of 1.02 (95% CI [1.00; 1.03]) was obtained. In contrast, for the indirect/mediation effect, an OR of 1.00 (95% CI [0.99; 1.01]) was obtained. Thus, there is no evidence that the occurrence of bumps drives the effect of catching duration on haematomas. The risk for haematomas therefore increased with the extension of the catching duration. We consider these inconsistent results as a statistical phenomenon due to the small to medium correlations and probably caused

by the small sample size. The occurrence of flips elevated the risk for fractures ($\text{OR} = 2.74$; 95% CI [1.08; 5.67]).

3.3. Blood parameters

The mean plasma corticosterone concentration varied from 10.58 ng/ml to 30.88 ng/ml for mechanically harvested broilers and from 15.25 ng/ml to 51.71 ng/ml for manually harvested broilers (Table 4). Thus, the plasma corticosterone concentration did not differ significantly between the two harvesting methods (beta for the difference = 4.04; 95% CI [-3.9; 4.1]). The H/L ratio varied from 0.79 to 2.19 for mechanically harvested broilers and from 0.80 to 1.43 for manually harvested broilers (Table 4). No significant correlation was found between the blood parameters (corticosterone, H/L ratio) and the observed behaviours (wing flapping, escape behaviour, bump and flip). The light intensity during catching varied from 0.06 lx to 7.93 lx (Table 1) and was found to have a positive effect on the plasma corticosterone concentration (beta = 3.75; 95% CI [2.55; 4.95]) during manual harvesting. On average, when the light intensity rose by 1 lx, the plasma corticosterone concentration rose by 3.7 ng/mL. Outdoor temperature also had an effect on the plasma corticosterone concentration, especially during manual harvesting (beta = 46.34; 95% CI [39.18; 53.27]). The outdoor temperature was expected to give information about the influence of season. When the outdoor temperature exceeded 20 °C, the plasma corticosterone concentration was significantly higher in manually than in mechanically harvested broilers at the same outdoor temperature (beta for the difference = 22.4; 95% CI [8.9; 35.5]) (Fig. 6).

4. Discussion

The results of the presented study showed correlations between the initial behaviour tests, several of the environmental and flock-specific parameters (such as light intensity and body weight), the behaviour of the broilers during harvesting and the occurrence of lesions. Please keep in mind that the investigation was conducted under field conditions and that some uncontrolled effects might have influenced the results to a certain extent. The results and correlations still indicate advantages and disadvantages of both harvesting methods and thus the need for improvement. The results also show limitations of the used tests and parameters for the comparative assessment of stress in broilers during manual harvesting and mechanical harvesting with the Apollo Generation 2.

The used behaviour tests ADTT and SPT allowed us a merely cautious determination of the underlying fear of humans in the flocks. As Zulkifli et al. (1998, p. 753) pointed out, 'although fear and stress are

¹ Corr = Correlation.

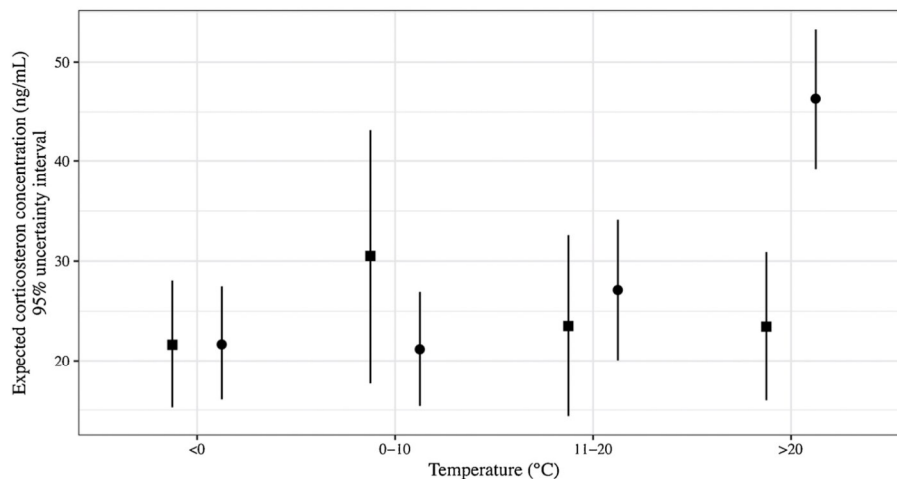


Fig. 6. Plasma corticosterone concentrations influenced by the outdoor temperature. Diagram showing the expected plasma corticosterone concentration and 95% uncertainty interval in relation to the outdoor temperature. The outdoor temperature was grouped in four intervals ($< 0^{\circ}\text{C}$, $0-10^{\circ}\text{C}$, $11-20^{\circ}\text{C}$ and $> 20^{\circ}\text{C}$). Three flocks were caught in temperature interval 1, four flocks each in intervals 2 and 3 and five flocks in interval 4 (note: the measurements of four loadings were lost due to technical problems). Plasma corticosterone concentrations were significantly higher in manually caught broilers (circles; $\beta = 46.34$; 95% confidence interval [CI] [39.18; 53.27]) than in mechanically harvested broilers (squares; $\beta = 23.45$; 95% CI [15.97; 30.91]) when outdoor temperatures were above 20°C .

not synonymous, fear, considered as an adaptive psychophysiological response to perceived danger, is a vital component of stress response'. In the following, the terms fear and stress are viewed as responses to perceived danger that impairs animal welfare. We expected broilers with a short avoidance distance and high approach activity to behave less fearful during harvesting. As developed and evaluated in the *Welfare Quality® consortium* (2009), a combination of an avoidance distance test and a touch test measures the birds' responses to an approaching human and is a way to assess the quality of the human-animal relationship (Johansson et al., 2015). The observed reactions in the ADTT therefore can be used to estimate the excitability and fear of humans of the tested broilers. Flocks with high ADTT values, which represent a short avoidance distance, showed significantly less escape behaviour during manual harvesting but more wing flapping during mechanical harvesting than flocks with low ADTT values. It is important to mention that during manual harvesting, the broilers are grabbed and held by the catcher and have little chances to escape once they are caught. On the harvesting machine, the broilers are not held back and some broilers try to leave the loading belt. To be able to compare the escape behaviour during both harvesting methods, the observation of this parameter was focused on the moment just before the catcher or harvesting machine touches a broiler. In contrast, the SPT assesses the voluntary approach toward a human (Hakansson, 2015). A recorded approach can be interpreted as curiosity to discover a novel object or as reflecting the bird's ability to move and possibly a high activity level. Unexpectedly, flocks with high SPT values in our study displayed more wing flapping during mechanical harvesting than flocks with low SPT values. Thus, the results of both behaviour tests could not predict the behaviour during mechanical harvesting. However, the human-animal relationship (which is a major component of the SPT and ADTT) likely plays a minor role during mechanical harvesting because direct human-animal contact is minimized, which is considered an advantage (Scott and Moran, 1993). The parameters average age, fattening day and mortality showed no statistical correlation with the outcomes of the SPT and ADTT. Although the SPT and ADTT are useful tests to assess the level of fear of humans in a flock, their predictive power for the behaviour of broilers under manual and mechanical harvesting conditions remains unclear. More appropriate tests for the prediction of the behaviour have to be designed.

The comparison of the manual and the applied mechanical harvesting methods is complex. Several of the herein analyzed parameters had a significant correlation to stress-induced behavioural and physiological reactions of the broilers. Manual harvesting was influenced by catching duration, average broiler weight of the flock, light intensity and outdoor temperature. The risk for wing flapping in manual harvesting increased by 51% when the catching duration increased by

1 min. The catching duration depends on the distance of the containers to the catching line and on the way the broilers are caught (Langkabel et al., 2015). Langkabel et al. (2015) observed that catching broilers by both legs instead of one leg prolongs the catching duration because the broilers are held on the ground longer while another broiler is being caught. Their finding that a prolonged catching procedure increases the risk for wing flapping is in line with the results of our study. Comparing the number of broilers carried at the same time, we found that the risk for wing flapping was highest when the catcher carried one broiler per hand. Possibly, these singly held broilers had more space for wing flapping and were not calmed down by the proximity of another broiler.

However, to reduce the risk for wing flapping, we recommend holding individual broilers under the abdomen instead of carrying several broilers in one hand at the same time. The abdomen technique is comparable with the UPRIGHT technique used by Kittelsen et al. (2018) and described as two birds being carried at once gently pressed together in an upright position, outer wing and chest embraced by the catcher's hand. This manual catching technique, which is known to be used in Sweden, is gentle to the birds and minimizes the risk of injuries (Knierim and Gocke, 2003). The advantages of the abdomen technique are that the broilers remain upright and are almost unable to flap their wings. Based on plasma corticosterone concentrations, Kannan and Mench (1997) concluded that upright handling is less stressful to broilers than inverted carrying. The reduction of injuries and therefore of pain and stress for the broilers should enhance animal welfare during harvesting. In our study, the abdomen technique was only used by one catching team and only 24.0% of the broilers caught by the abdomen showed wing flapping, whereas an average of 74.0% showed wing flapping during the other manual harvesting techniques.

To reduce the catching duration and the risk for wing flapping, the containers should be as close to the flock as possible (Langkabel et al., 2015) and the catchers should be experienced to assure a smooth workflow (Gocke, 2000). The importance of a smooth workflow also applies to mechanical harvesting. In our study, the risk for wing flapping during manual harvesting increased with increasing average broiler weight of the flocks. It seems logical that catching and lifting heavy broilers gently is more difficult and strenuous for the catchers than handling lighter broilers. Concentration and strength probably decrease during the catching procedure (Nijdam et al., 2004), which could lead to rough handling of the broilers. We suggest that manual harvesting should mainly be applied on flocks with a low average weight. Heavily fattened flocks should rather be harvested by machine because stress-induced behaviour during mechanical harvesting was not influenced by the average broiler weight of the flocks.

In addition, we found that the manual harvesting method was influenced by light intensity and outdoor temperature. The risk for wing

flapping and the mean plasma corticosterone concentration significantly increased with elevated light intensity. The light intensity was elevated when the darkening of the stable was insufficient, which often occurs during daytime loadings. The behaviour of broilers is influenced by the light intensity, and reducing the light level during harvesting is a general procedure to minimize the broilers' activity (Knowles and Broom, 1990; Nicol and Scott, 1990). The darkening of the stable seemed to be insufficient during daytime loadings because natural light came in through the opened stable gate, the windows and sometimes even through the ventilation system. It is difficult to separate the influence of the light intensity from a possible influence of diurnal patterns in corticosterone levels. With the loadings being conducted during night time and in the morning hours, we tried to keep the influence of the diurnal patterns in corticosterone levels as little as possible because the peak was found to be around midday (De Jong et al., 2001). In our study, the plasma corticosterone concentration of manually harvested broilers was also significantly higher when outdoor temperatures exceeded 20 °C, confirming the findings of previous research (reviewed by Scanes, 2016). The outdoor temperature was used to investigate the effect of season on the harvested broilers. High temperatures are strenuous for the circulation system of the broilers (Gussem de et al., 2016) and for the catchers. Of course it is difficult to say if the corticosterone levels were raised just by the temperature or as well by probable rough handling by the heat-affected catchers. Nonetheless, the elevated corticosterone levels at outdoor temperatures exceeding 20 °C indicate an elevated stress level. Similar to the problem of ensuring constant darkening of the stable, we could not manipulate the temperature in the stable because it was pre-set by the forced ventilation system. Therefore, the use of the harvesting machine Apollo Generation 2 could reduce the stress which broilers suffer during daytime loadings and in hot weather because these parameters did not significantly influence the stress levels measured during mechanical harvesting. To validate these results, further research with bigger sample sizes could be an option as well as including measurements of the indoor temperature.

Furthermore, we found no correlation between the measured behavioural and physiological parameters. According to the work of Jacobs et al. (2017), we took blood samples at the abattoir to avoid stressful direct handling of the broilers. Plasma corticosterone concentration and the H/L ratio are responsive to handling and blood sampling (Wein et al., 2016). To minimize the effect of transport stress and duration, we standardized the transport duration. Results could have been different if the blood samples had been taken from living broilers immediately after harvesting. However, blood parameters then would have been influenced by direct handling (Kannan and Mench, 1997), adding an artefact and especially distorting the results of mechanically harvested broilers. Because the impact of transportation and unloading at the abattoir cannot be excluded completely, the used method to measure blood parameters in this study might not be the most adequate approach. The blood plasma corticosterone concentrations of broilers stunned by electrocution or carbon dioxide stunning were found to be comparable (Xu et al., 2011a, b). It is possible that an imbalance of carbon dioxide and oxygen concentrations in the stunning atmosphere induced a high stress level and adverse reactions such as convulsions (Turcsán et al., 2001) and therefore led to the high plasma corticosterone concentrations measured in this study. Furthermore, the differences of blood sample parameters between the broilers of one flock were quite high. Thus, plasma corticosterone concentration and the H/L ratio might not be applicable to comparing the stress induced in broiler flocks by manual or mechanical harvesting.

The observed behavioural reactions during harvesting proved to have significant effects on the risk for haematomas and fractures during mechanical harvesting with the Apollo Generation 2. The passive behaviour patterns bump and flip, which are thought to be stressful for the affected broilers, were identified as significant risk factors. The correlations of the risk for bumps to the catching duration and the risk

for haematomas were confusing. Thus, we conducted a mediation analysis and, as a result, had to dismiss the idea that the extension of the catching duration by slowing down the loading belts would reduce the risk for bumps and therefore indirectly the risk for haematomas. The mediation analysis showed that the indirect effect was too small and that slowing down the loading belts would increase the risk for haematomas. The results could have been different if the focus had been on the individual animal instead of the flock level. Individual broilers reacted differently to the speed of the loading belts, and the applied sample size of 10 flocks per method might be too small for determining the influence of the speed of the loading belts on the risk for haematomas.

The speed of the loading belts was not the only factor influencing the behaviour of the broilers and the risk for haematomas. Analysing the videos, we noticed that the dropping height of the broilers being put into the containers and the stopping and starting of the loading belts disturbed the balance of the transported broilers. This disturbance of balance might lead to startling reflexes, wing spreading and wing flapping, and it is probable that the wings of the broilers hit against the machine or the loading belts, resulting in haematomas. The risk for wing flapping during mechanical harvesting was highest in broilers passing the second transition. This result applies to the total risk for wing flapping as well as the risk for wing flapping depending on the moment of occurrence (loading belt is moving, standing still or starting/stopping). This finding particularly implies the need for a modification of this transition. The objective observation that the broilers struggle with the dropping height from the first to the second loading belt combined with the change of direction could explain the amount of wing flapping at this transition. A smoother workflow with fewer interruptions would make the mechanical harvesting a less stressful event and might reduce the risk for haematomas.

5. Conclusions

The results of this study show correlations of various factors and allow us to suggest improvements for the manual as well as the mechanical harvesting of broilers with the Apollo Generation 2. The underlying pre-existing fear of humans determined by the SPT and ADTT failed to predict harvesting-induced stress levels in the examined flocks. The assessed flock-specific and environmental parameters show that mechanical harvesting is less influenced by average broiler weight of the flock, light intensity or outdoor temperature than manual harvesting and should be preferred for heavily fattened broilers, during daytime loadings and in hot weather. The use of the abdomen technique should be preferred for manual harvesting. For a better understanding of the effect of the speed of the loading belts on the risk for haematomas, further research with a different experimental approach and focus on the animal level instead of the flock level is needed. Measuring harvesting-induced stress in broilers is complex, and the applied tests and observation techniques need further modification to improve the validity of the results. Therefore, this study can serve as a stepping stone for future research projects. The investigated machine Apollo Generation 2 can reduce stress and improve animal welfare during the harvesting of broilers if the necessary modifications are carried out and the machine is conducted carefully.

We wish to confirm that there are no known conflicts of interest associated with this publication and there has been no significant financial support for this work that could have influenced its outcome. Financial support was given by the Bavarian State Ministry of the Environment and Consumer Protection through the Bavarian Health and Food Safety Authority (K3-2533-PN 16-24). The Bavarian Health and Food Safety Authority influenced the study design only in demanding that the manual catchers had to obey the Council of Europe's recommendation to lift the broilers by both legs.

Declaration of Competing Interest

We wish to confirm that there are no known conflicts of interest associated with this publication and there has been no significant financial support for this work that could have influenced its outcome. Financial support was given by the Bavarian State Ministry of the Environment and Consumer Protection through the Bavarian Health and Food Safety Authority (K3-2533-PN 16-24). The Bavarian Health and Food Safety Authority influenced the study design only in demanding that the manual catchers had to obey the Council of Europe's recommendation to lift the broilers by both legs.

We confirm that the manuscript has been read and approved by all named authors and that there are no other persons who satisfied the criteria for authorship but are not listed. We further confirm that the order of authors listed in the manuscript has been approved by all of us.

We confirm that we have given due consideration to the protection of intellectual property associated with this work and that there are no impediments to publication, including the timing of publication, with respect to intellectual property. In so doing we confirm that we have followed the regulations of our institutions concerning intellectual property.

We further confirm that any aspect of the work covered in this manuscript that has involved animals has been conducted according to the ethical guidelines published on the website of the International Society for Applied Ethology.

Acknowledgments

We thank all farmers, machine conductors and catchers for their cooperation during this study. We especially acknowledge the help of Martin Gotthart, who coordinated the loadings and always supported us with his knowledge about poultry production. We thank Nicole Zobel and Hermann Kuchler for their technical support and work in analysing the blood plasma samples. We thank Dr. Verena Lietze for the scientific language editing.

This work was kindly funded by the Bavarian State Ministry of the Environment and Consumer Protection through the Bavarian Health and Food Safety Authority (K3-2533-PN 16-24).

References

- De Jong, I.C., Van Voorst, A.S., Erkens, J.H.F., Ehlhardt, D.A., Blokhuis, H.J., 2001. Determination of the circadian rhythm in plasma corticosterone and catecholamine concentrations in growing broiler breeders using intravenous cannulation. *Physiol. Behav.* 74, 299–304.
- Delezie, E., Verbeke, W., De Tavernier, J., Decuyper, E., 2007. Consumer perception versus scientific evidence about alternatives for manual catching of broilers in Belgium. *Poult. Sci.* 86, 413–419. <https://doi.org/10.1093/ps/86.2.413>.
- Duncan, I.J.H., Slee, G.S., Kettlewell, P., Berry, P., Carlisle, A.J., 1986. Comparison of the stressfulness of harvesting broiler chickens by machine and by hand. *Br. Poult. Sci.* 27, 109–114. <https://doi.org/10.1080/00071668608416861>.
- European Commission, 1995. Empfehlung in Bezug auf Haushühner der Art *Gallus gallus*. URL: https://www.bmel.de/SharedDocs/Downloads/Tier/Tierschutz/GutachtenLeitlinien/EU-HaltungHaushuehner.pdf?__blob=publicationFile (Accessed 28 February 2019).
- Federal Ministry of Food and Agriculture, 2012. Leitlinie zur Haltung von Masthühnern, Bonn. URL: https://www.gvvn-mv.de/fileadmin/Inhalt/fachinfos/SW_Gefluegelleitlinie.pdf (Accessed 28 February 2019).
- Forkman, B., Boissy, A., Meunier-Salaün, M.-C., Canali, E., Jones, R.B., 2007. A critical review of fear tests used on cattle, pigs, sheep, poultry and horses. *Physiol. Behav.* 92, 340–374. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2007.03.016>.
- Gantert, H.K., 2013. Ultrastrukturelle, glykohistochemische und immunhistochemische Untersuchungen am Blut des Haushühners (*Gallus gallus domesticus*). Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität, München, Germany.
- Gocke, A., 2000. Untersuchung über den Einsatz einer Hähnchenfangmaschine in Mastbetrieben in Norddeutschland. Dissertation, TiHo Hannover, Germany.
- Goessling, J.M., Kennedy, H., Mendonça, M.T., Wilson, A.E., 2015. A meta-analysis of plasma corticosterone and heterophil:lymphocyte ratios – is there conservation of physiological stress responses over time? *Funct. Ecol.* 29, 1189–1196. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12442>.
- Graml, C., Niebuhr, K., Waiblinger, S., 2008a. Reaction of laying hens to humans in the home or a novel environment. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 113, 98–109. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2007.10.004>.
- Graml, C., Waiblinger, S., Niebuhr, K., 2008b. Validation of tests for on-farm assessment of the hen–human relationship in non-cage systems. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 111, 301–310. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2007.06.002>.
- Gross, W.B., Siegel, H.S., 1983. Evaluation of the heterophil/lymphocyte ratio as a measure of stress in chickens. *Avian Dis.* 27, 972–979. <https://doi.org/10.2307/1590198>.
- Gussem de, M., Mailyan, E., Middelkoop van, K., Mullem van, K., Veer van't, E., 2016. Broiler Signals. A Practical Guide for Broiler Focused Management. Roodbont Publishers B.V., Zutphen, Netherlands.
- Hakansson, F., 2015. Effect of Daytime and Age on the Avoidance and Approach Behaviour of Commercial Danish Broiler Chicken. Master Thesis. Linköpings universitet, Sweden.
- Imai, K., Yamamoto, T., 2013. Identification and sensitivity analysis for multiple causal mechanisms: revisiting evidence from framing experiments. *Political Anal.* 21 (2), 141–171.
- Jacobs, L., Delezie, E., Duchateau, L., Goethals, K., Ampe, B., Buyse, J., Tuytens, F.A.M., 2017. Impact of transportation duration on stress responses in day-old chicks from young and old breeders. *Res. Vet. Sci.* 112, 172–176. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2017.04.015>.
- Johansson, A., Blokhuis, H.J., Berckmans, D., Butterworth, A., 2015. Development of an automatic method to assess human–animal relationship in broilers on flock level. Conference Paper, 7th European Conference on Precision Livestock Farming 195–201.
- Jones, R.B., Faure, J.M., 1981. The effects of regular handling on fear responses in the domestic chick. *Behav. Processes* 6, 135–143. [https://doi.org/10.1016/0376-6357\(81\)90032-2](https://doi.org/10.1016/0376-6357(81)90032-2).
- Jones, R.B., 1992. The nature of handling immediately prior to test affects tonic immobility fear reactions in laying hens and broilers. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 34, 247–254.
- Kannan, G., Heath, J.L., Wabeck, C.J., Mench, J.A., 1997. Shackling of broilers: effects on stress responses and breast meat quality. *Br. Poult. Sci.* 38, 323–332. <https://doi.org/10.1080/00071669708417998>.
- Kannan, G., Mench, J.A., 1997. Prior handling does not significantly reduce the stress response to pre-slaughter handling in broiler chickens. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 51, 87–99. [https://doi.org/10.1016/S0168-1591\(96\)01076-3](https://doi.org/10.1016/S0168-1591(96)01076-3).
- Kittelsen, K.E., Granquist, E.G., Aunsmo, A.L., Oppermann Moe, R., Tolo, E., 2018. An evaluation of two different broiler catching methods. *Animals* 8, 141. <https://doi.org/10.3390/ani8080141>.
- Knierim, U., Gocke, A., 2003. Effect of catching broilers by hand or machine on rates of injuries and dead-on-arrivals. *Anim. Welf.* 12, 63–73.
- Knowles, T.G., Broom, D.M., 1990. The handling and transport of broilers and spent hens. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 28, 75–91. [https://doi.org/10.1016/0168-1591\(90\)90047-H](https://doi.org/10.1016/0168-1591(90)90047-H).
- Lacy, M.P., Czarick, M., 1998. Mechanical harvesting of broilers. *Poult. Sci.* 77, 1794–1797. <https://doi.org/10.1093/ps/77.12.1794>.
- Langkabel, N., Baumann, M.P.O., Feiler, A., Sangunkiat, A., Fries, R., 2015. Influence of two catching methods on the occurrence of lesions in broilers. *Poult. Sci.* 94, 1735–1741. <https://doi.org/10.3382/ps/pev164>.
- Lentfer, T.L., Pendl, H., Gebhardt-Henrich, S.G., Fröhlich, E.K.F., Von Borell, E., 2015. H/L ratio as a measurement of stress in laying hens – methodology and reliability. *Br. Poult. Sci.* 56, 157–163. <https://doi.org/10.1080/00071668.2015.1008993>.
- Martin, P., Bateson, P., 2007. Measuring Behaviour, third edition. Cambridge University Press, New York.
- McShane, B.B., Gal, D., 2017. Statistical significance and the dichotomization of evidence. *J. Am. Stat. Assoc.* 112 (519), 885–895.
- Nicol, C.J., Scott, G.B., 1990. Pre-slaughter handling and transport of broiler chicken. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 28, 57–73. [https://doi.org/10.1016/0168-1591\(90\)90046-G](https://doi.org/10.1016/0168-1591(90)90046-G).
- Nijdam, E., Arens, P., Lambooi, E., Decuyper, E., Stegeman, J.A., 2004. Factors influencing broilers and mortality of broilers during catching, transport, and lairage. *Poult. Sci.* 83, 1610–1615. <https://doi.org/10.1093/ps/83.9.1610>.
- R Core Team, 2018. R: A Language and Environment for Statistical Computing. URL: R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>.
- Rue, H., Martino, S., Chopin, N., 2009. Approximate bayesian inference for latent Gaussian models using integrated nested laplace approximations (with discussion). *J. R. Stat. Soc. Ser. B* 71, 319–392.
- Sapolsky, R.M., Romero, L.M., Munck, A.U., 2000. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocr. Rev.* 21, 55–89. <https://doi.org/10.1210/edrv.21.1.0389>.
- Scanes, C.G., 2016. Biology of stress in poultry with emphasis on glucocorticoids and the heterophil to lymphocyte ratio. *Poult. Sci.* 95, 2208–2215.
- Scott, G.B., Moran, P., 1993. Fear levels in laying hens carried by hand and by mechanical conveyors. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 36, 337–345. [https://doi.org/10.1016/0168-1591\(93\)90131-8](https://doi.org/10.1016/0168-1591(93)90131-8).
- Seliger, C., Schaerer, B., Kohn, M., Pendl, H., Weigend, S., Kaspers, B., Härtle, S., 2012. A rapid high-precision flow cytometry based technique for total white blood cell counting in chickens. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 145, 86–99. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2011.10.010>.
- Tingley, D., Yamamoto, T., Hirose, K., Keele, L., Imai, K., 2014. Mediation: r package for causal mediation analysis. *J. Stat. Softw.* 59 (5), 1–38. URL: <http://www.jstatsoft.org/v59/i05/>.
- Turcsán, Z.S., Szigei, J., Varga, L., Farkas, L., Birkás, E., Turcsán, J., 2001. The effects of electrical and controlled atmosphere stunning methods on meat and liver quality of geese. *Poult. Sci.* 80, 1647–1651. <https://doi.org/10.1093/ps/80.11.1647>.
- Walker, M., Díez-León, M., Mason, G., 2014. Animal welfare science: recent publication trends and future research priorities. *Int. J. Comp. Psychol.* 27, 80–100.

I. Wolff, et al.

Applied Animal Behaviour Science xxx (xxxx) xxx

- Wasserstein, R.L., Lazar, N.A., 2016. The ASA's statement on p-values: context, process, and purpose. *Am. Stat.* 70 (2), 129–133.
- Wein, Y., Bar Shira, E., Friedman, A., 2016. Avoiding handling-induced stress in poultry: use of uniform parameters to accurately determine physiological stress. *Poult. Sci.* 96, 65–73. <https://doi.org/10.3382/ps/pew245>.
- Welfare Quality® consortium, 2009. Welfare Quality® Assessment Protocol for Poultry. Welfare Quality® Consortium, 8200 AB Lelystad, The Netherlands. ISBN/EAN: 978-90-78240-06-8. .
- Zulkifli, I., Rasedee, A., Nor Syaadah, O., Che Norma, M.T., 1998. Daylength effects on stress and fear responses in broiler chickens. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 11, 751–754.
- Xu, L., Zhang, L., Yue, H.Y., Wu, S.G., Zhang, H.J., Ji, F., Qi, G.H., 2011a. Effect of electrical stunning current and frequency on meat quality, plasma parameters, and glycolytic potential in broilers. *Poult. Sci.* 90, 1823–1830. <https://doi.org/10.3382/ps.2010-01249>.
- Xu, L., Ji, F., Yue, H.Y., Wu, S.G., Zhang, H.J., Zhang, L., Qi, G.H., 2011b. Plasma variables, meat quality, and glycolytic potential in broilers stunned with different carbon dioxide concentrations. *Poult. Sci.* 90, 1831–1836. <https://doi.org/10.3382/ps.2010-01330>.

V. ERWEITERTE ERGEBNISSE

1. Flügelschlagen bei der Fangmaschinenverladung

Bei der Verladung mit der CMC Apollo Generation 2 wurden die Masthühner wie bereits beschrieben über fünf nacheinander geschaltete Förderbänder vom Stallboden in die Container platziert. Da die einzelnen Übergänge als kritische Stellen betrachtet und pro Übergang 100 Tiere beobachtet wurden, hat man anhand der Häufigkeit des Verhaltensparameters Flügelschlagen abschätzen können, welcher Übergang dieses Verhalten am wahrscheinlichsten ausgelöst hat. Die Verhaltensparameter „Fluchtverhalten“, „Überschlag“ und „Anschlagen am Container“ konnten nicht bei allen Übergängen beurteilt werden und wurden daher nicht in diese Auswertung eingearbeitet. Die deskriptive Beschreibung (s. Tab. 1) hat ergeben, dass beim zweiten Förderbandwechsel am häufigsten Flügelschlagen zu beobachten war, gefolgt vom fünften Förderbandwechsel.

Tabelle 1: Deskriptive Beschreibung der Häufigkeit (%) von Flügelschlagen (FS) an den einzelnen Förderbandwechseln (FBW) während der maschinellen Verladung mit der CMC Apollo Generation 2 (Mech = Fangmaschinenverladung/mechanical harvesting).

Mech	FS in % FBW 1	FS in % FBW 2	FS in % FBW 3	FS in % FBW 4	FS in % FBW 5
1	20	78	41	38	63
2	33	81	39	31	75
3	24	81	43	45	89
4	20	81	44	29	76
5	20	70	44	39	72
6	28	85	48	36	75
7	42	82	40	41	77
8	27	85	33	30	79
9	17	71	39	38	68
10	22	60	41	38	69
Ø	25,3	77,4	41,2	36,5	74,3

Zudem wurde ausgewertet, ob das Auftreten von Flügelschlägen abhängig von der Bewegung der Förderbänder ist. Beurteilt wurde das Verhalten an laufenden Förderbändern, an stehenden Förderbändern und an anhaltenden bzw. anlaufenden Förderbändern (s. Abb. 6 - 9).

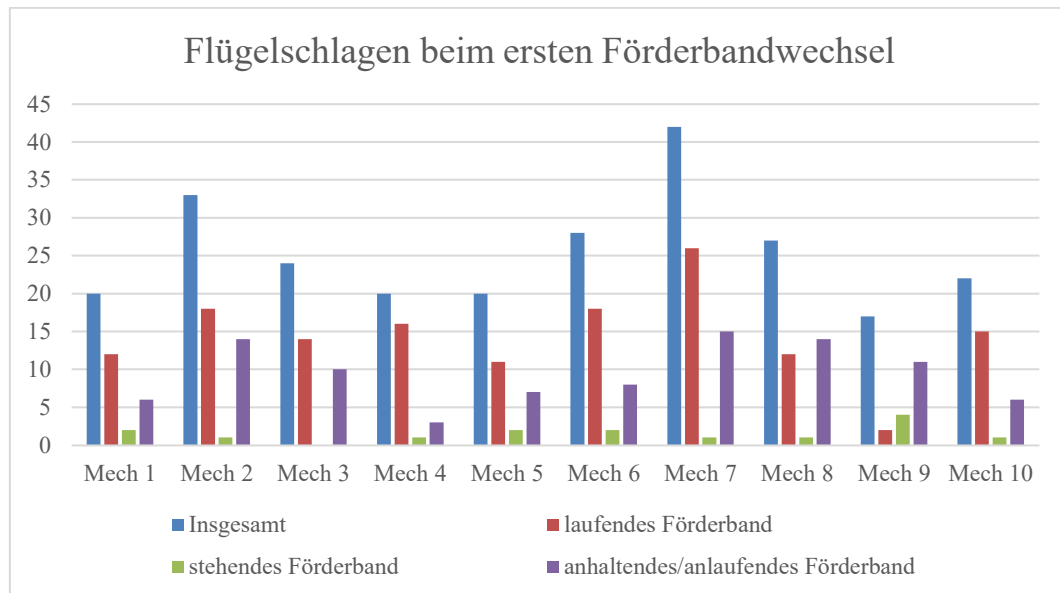


Abbildung 6: Detaillierte Betrachtung des Parameters „Flügelschlägen“ am ersten Förderbandwechsel in Abhängigkeit von der Bewegung des ersten Förderbandes der Fangmaschine Apollo Generation 2 (Mech = Fangmaschinenverladung/mechanical harvesting).

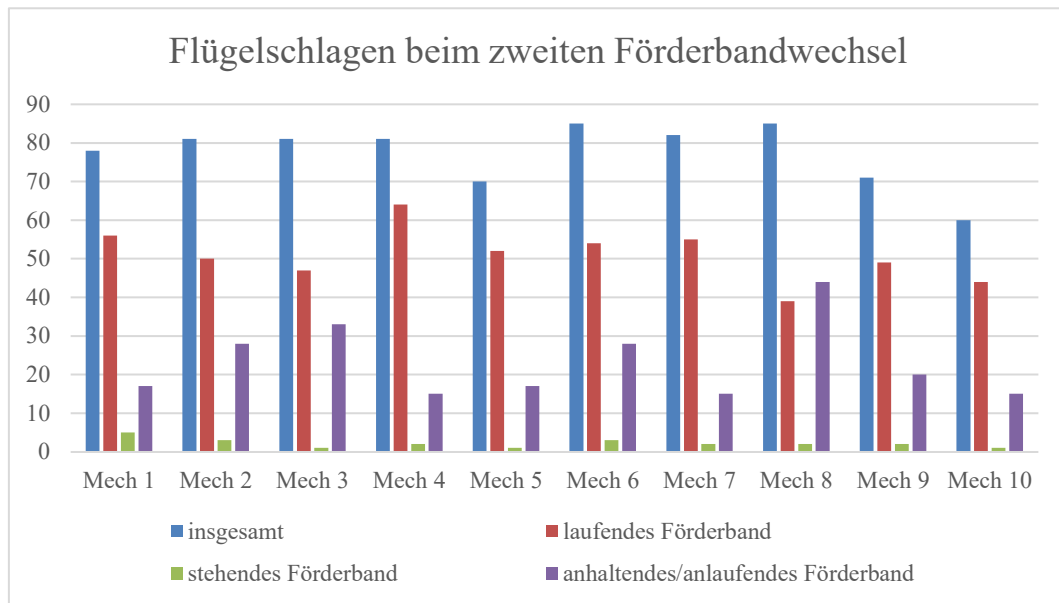


Abbildung 7: Detaillierte Betrachtung des Parameters „Flügelschlagen“ am zweiten Förderbandwechsel in Abhängigkeit von der Bewegung des ersten und zweiten Förderbandes der Fangmaschine Apollo Generation 2 (Mech = Fangmaschinenverladung/mechanical harvesting).

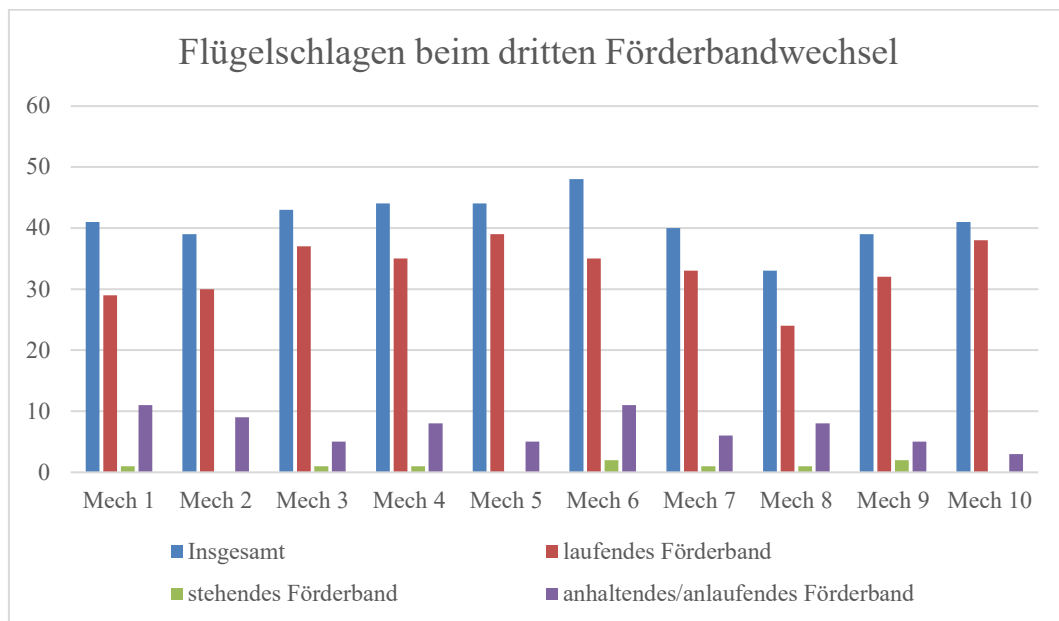


Abbildung 8: Detaillierte Betrachtung des Parameters „Flügelschlagen“ am dritten Förderbandwechsel in Abhängigkeit von der Bewegung des zweiten und dritten Förderbandes der Fangmaschine Apollo Generation 2 (Mech = Fangmaschinenverladung/mechanical harvesting).

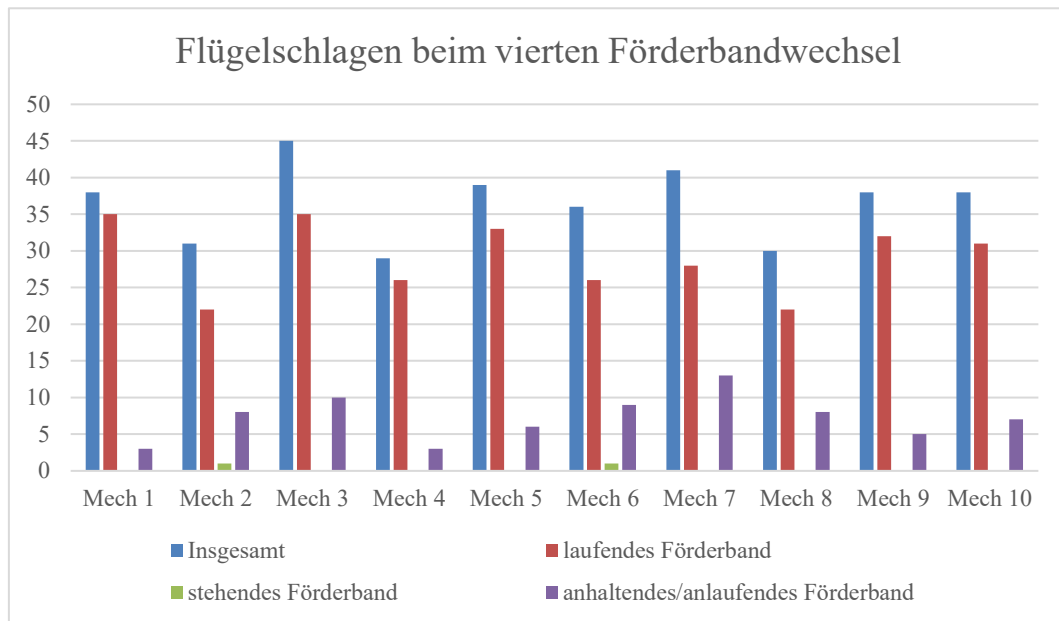


Abbildung 9: Detaillierte Betrachtung des Parameters „Flügelschlagen“ am vierten Förderbandwechsel in Abhängigkeit von der Bewegung des dritten und vierten Förderbandes der Fangmaschine Apollo Generation 2 (Mech = Fangmaschinenverladung/mechanical harvesting).

Die detaillierte Betrachtung, ob das Auftreten von Flügelschlagen abhängig von der Bewegung der Förderbänder ist, konnte für den fünften Förderbandwechsel, sprich dem Absetzen der Tiere in die Container, nicht vorgenommen werden. Das fünfte Förderband wurde nur angehalten, wenn beim Beladen die Containerseite gewechselt oder der Container ausgetauscht wurde.

Am häufigsten schlugen die Masthühner mit dem Flügel, wenn beim zweiten Förderbandwechsel die Förderbänder in Bewegung waren, im Durchschnitt 51 % der Tiere. Das Auftreten von Flügelschlagen bei stehenden Förderbändern hat 2,2 % betragen. Wenn die Förderbänder angehalten bzw. angelaufen sind, schlugen 23,2 % der Masthühner beim zweiten Förderbandwechsel mit den Flügeln. Das Zusammenrechnen der Ergebnisse der fünf Förderbandwechsel hat ergeben, dass im Durchschnitt 31,9 % der Masthühner bei laufenden Förderbändern mit den Flügeln geschlagen haben, 1,2 % bei stehenden Förderbändern und 11,7 % wenn die Förderbänder angehalten wurden bzw. angelaufen sind.

2. Schallpegel und Lichtintensität

Bei jeder Verladung wurde der Schallpegel gemessen. Dieser schien beim Fangen mit der Fangmaschine im Vergleich zum manuellen Fang etwas erhöht gewesen zu sein. Es konnte nicht zwischen dem Maschinenlärm und von den Masthühnern durch Lautäußerungen verursachtem Lärm unterschieden werden. Untersucht wurde die Korrelation mit der gemessenen Lichtintensität (s. Tab. 2).

Tabelle 2: Deskriptive Beschreibung des Merkmals Schallpegel (dB) in Zusammenhang mit der Lichtintensität (lux). Darstellung der Mindestwerte (Min), Höchstwerte (Max), Mittelwerte (Mean), Standardabweichungen (SD) und der Korrelation zwischen Schallpegel und Lichtintensität.

Typ	Min	Max	Mean	SD	Korrelation
Fangmaschine	78,4	87,0	82,6	3,3	0,21 [-0,48; 0,74]
Manuelles Fangen	70,1	80,8	75,1	2,9	-0,14 [-0,71; 0,54]

Durch die Verwendung eines linearen Regressionsmodell zur weiteren Analyse des Zusammenhangs mit der Lichtintensität wurde ein mittlerer Schallpegel von 82,3 dB [80,1; 84,5] für die Fangmaschine und 75,4 dB [72,9; 77,9] für das manuelle Fangen geschätzt. Diese geschätzten Werte unterscheiden sich geringfügig von den gemessenen Werten, welche in Tabelle 2 angegebenen sind. Da sich die beiden Intervalle nicht überschneiden, lag ein signifikanter Unterschied in der Lärmbelastung zwischen den Fangmethoden vor.

Der Effekt der Lichtintensität auf den Schallpegel hat 0,3 dB pro Lux [-0,7; 1,3] für die Fangmaschine und -0,1 dB pro Lux [-0,9; 0,6] für das manuelle Fangen betragen. Der Zusammenhang zwischen Schallpegel und Lichtintensität hat sich als nicht signifikant herausgestellt, da die Intervalle jeweils die 0,0 schneiden.

3. Corticosteron und Cortisol

Die Ergebnisse der Blutuntersuchungen waren nicht mit Werten aus der Literatur vergleichbar, da in der vorliegenden Studie arteriovenöses Blut verwendet wurde. Die Ergebnisse haben keine großen Abweichungen zwischen den einzelnen Blutparametern untereinander sowie zwischen den Fangmethoden aufgezeigt (s. Tab. 3).

Tabelle 3: Deskriptive Beschreibung der Blutparameter Corticosteron (ng/ml), Cortisol (ng/ml) und H/L Ratio für das Fangen mit der Fangmaschine CMC Apollo Generation 2 (Mech) sowie dem manuelle Zweibein-Fang (Man), (H/L Ratio = Heterophilen/Lymphozyten Ratio). Darstellung der Mindestwerte (Min), Höchstwerte (Max), Mittelwerte (Mean) und die Standardabweichungen (SD).

Blutparameter	Typ	Min	Max	Mittelwert	SD
Corticosteron	Mech	10,58	30,88	23,44	6,08
Corticosteron	Man	15,25	51,71	27,55	11,14
Cortisol	Mech	140,50	370,34	245,33	66,81
Cortisol	Man	126,13	401,07	240,15	88,97
H/L Ratio	Mech	0,79	2,19	1,30	0,43
H/L Ratio	Man	0,80	1,43	1,17	0,19

Die Intervallgrenzen für Corticosteron und Cortisol waren beim manuellen Fang im Vergleich zum maschinellen Fang größer, wie man in Tabelle 3 sehen kann. Der Mittelwert vom Corticosteron war beim manuellen Fang um 4,11 ng/ml höher als beim maschinellen Fang. Der Mittelwert vom Cortisol um 30,73 ng/ml. Die weiterführende Berechnung der Korrelationskoeffizienten hat keine signifikanten Zusammenhänge der Blutparameter untereinander ergeben (s. Tab. 4).

Tabelle 4: Korrelationskoeffizienten (inklusive der Intervallgrenzen) der Blutparameter Corticosteron, Cortisol und der H/L Ratio untereinander (H/L Ratio = Heterophilen/Lymphozyten Ratio).

Variable	Korrelation (H/L Ratio)	Korrelation (Corticosteron)	Korrelation (Cortisol)
Corticosteron	0,16 [-0,3; 0,56]	1 [1; 1]	-0,31 [-0,66; 0,15]
Cortisol	-0,38 [-0,71; 0,07]	-0,31 [-0,66; 0,15]	1 [1; 1]
H/L Ratio	1 [1; 1]	0,16 [-0,3; 0,56]	-0,38 [-0,71; 0,07]

VI. ERWEITERTE DISKUSSION

1. Flügelschlagen bei der Fangmaschinenverladung

Die Auswertung des Verhaltensparameters „Flügelschlagen“ zeigt, dass bei dem zweiten Förderbandwechsel die meisten Masthühner (77,4 %) mit den Flügeln geschlagen haben. Dieses Ergebnis könnte bautechnisch bedingt sein, weil bei dem zweiten Förderbandwechsel die Masthühner zum einen einen Höhenunterschied von etwa 10 cm überwinden müssen und sich zum anderen zusätzlich die Richtung des Förderbandes ändert. Diese Ergebnisse sind konform mit den Untersuchungen von GÖCKE (2000) und FRIES (2014). Der zweite Förderbandwechsel hat bei einigen Masthühnern ein Flügelspreizen ausgelöst, welches vermutlich auf einen Stellreflex zurück zu führen ist und der Balance dienen soll. Diesen Bewegungsablauf konnte man insbesondere dann beobachten, wenn das Förderband angehalten hat bzw. angelaufen ist. Dieses Flügelspreizen ist häufig in ein Flügelschlagen übergegangen, welches unter anderem der Wiederherstellung der Balance dient (LIEN et al., 2012). In der Studie von KANNAN et al. (1997) wurde festgestellt, dass die Mehrheit der mit einem Förderband transportierten Masthühner mit den Flügeln schlagen, wenn sie eine Unebenheit passieren. Es ist zu bemerken, dass die erwähnte Studie das Verhalten von Masthühnern beschreibt, die am Schlachthof kopfüber an einem Förderband hängend transportiert wurden. Grundsätzlich ist der Fangprozess anstrengend für die Masthühner und schon kleine Irritationen können Abwehrreaktionen auslösen. Das Flügelschlagen wird als Abwehrreaktion auf einen Stressor gewertet, welches als Angstverhalten gewertet werden kann (KANNAN et al., 1997). Zudem ist beschrieben, dass diese Abwehrreaktionen das Verletzungsrisiko für Blutergüsse und Flügelbrüche erhöhen (KNOWLES und BROOM, 1990; KANNAN et al., 1997) und somit das Tierwohl nachhaltig beeinflussen. Das Flügelschlagen variierte individuell in seiner Intensität und Länge. Einige Tiere haben auch versucht zu flüchten und wenige Tiere sind von der Fangmaschine zurück in die Herde geflogen. Die Bauweise der Fangmaschine CMC Apollo Generation 2 begünstigt durch ihre Konstruktion am zweiten Förderbandwechsel die Verhaltensparameter „Flügelschlagen“ und „Fluchtverhalten“, weswegen eine Überarbeitung an dieser Stelle der

Fangmaschine vorgenommen werden sollte, um den zweiten Förderbandwechsel schonender für die Tiere zu gestalten.

Die Wahrscheinlichkeit für Flügelschlagen scheint außerdem davon abzuhängen, ob die Förderbänder laufen, stehen oder anhalten bzw. anlaufen. Nachvollziehbar ist das Ergebnis, dass nur 2,2 % der Masthühner mit dem Flügel schlagen, wenn die Förderbänder stehen. Sie müssen sich in diesem Fall seltener ausbalancieren. Auf den laufenden Förderbändern schlagen 51 % mit den Flügeln und 23,2 % wenn die Förderbänder anhalten bzw. anlaufen. Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass laufende Förderbänder mehr Flügelschlagen auslösen. Es ist zu erwähnen, dass während des Fangprozesses die Förderbänder häufiger laufen, als das sie anhalten bzw. anlaufen und daher weniger Masthühner während dieses Modus-Wechsel beobachtet werden konnten. FRIES (2014) ist zu dem Ergebnis gekommen, dass es bei Richtungswechsel der Förderbänder zu vermehrten Flügelschlagen kommt. Ein Richtungswechsel stellt in gewisser Weise auch einen Modus-Wechsel dar. Die Fangmaschine wird angehalten, wenn die Schubladen vollständig beladen sind und die vollen Container mit leeren ausgetauscht werden oder falls es aus Sicherheitsgründen erforderlich ist. Damit die Fangmaschine so selten wie möglich angehalten werden muss, laufen die hinteren Förderbänder schneller als die vorderen. Eine Zunahme der Geschwindigkeiten der Förderbänder zum hinteren Teil der Fangmaschine ist notwendig um die schmalere hinteren Förderbänder und somit eine höhere Kapazität der Tierzahl am Aufnahmebereich der Fangmaschine zu kompensieren. Eine Abnahme der Geschwindigkeitsunterschiede der Förderbänder wäre also nur in Kombination mit einer Verbreiterung dieser Förderbänder möglich. Entscheidender als die Geschwindigkeit der Förderbänder ist laut GÖCKE (2000) allerdings die Erfahrung der Arbeiter, welche die Fangmaschine bedienen. Daher sollte die Sachkenntnis der Arbeiter geschult und regelmäßig kontrolliert werden.

2. Schallpegel und Lichtintensität

Es verwundert nicht, dass der Schallpegel beim Fangen mit der Fangmaschine höher ist, als beim manuellen Fangen, da die laufende Fangmaschine durch Motorengeräusche einen nicht zu vernachlässigenden Schallpegel aufweist. Man darf aber den Anteil der Lautäußerungen der Hühner nicht vernachlässigen.

BAEUMER (1964) hat das natürliche Verhalten von Hühnern beschrieben, bei Gefahr den Rest der Schar durch Lautäußerungen und Rufe zu warnen. Diese Laute erzeugen erhöhte Aufmerksamkeit und eventuelles aufsuchen einer Deckung. Diese Verhaltensweisen können als Stressverhalten auf einen möglichen Feind interpretiert werden. In der vorliegenden Studie unterschied sich der mittlere Schallpegel zwischen dem manuellen und dem maschinellen Fangen um 6,9 dB. Bei beiden Fangmethoden wurde der in den Bundeseinheitlichen Leitlinien zur Haltung von Masthühnern (BMELV) festgelegte Höchstwert nicht überschritten. In dieser Studie wird die Herkunft des Schalls nicht eingehender betrachtet. Ein möglicher Einfluss auf den Schallpegel kann die vorherrschende Lichtintensität sein. Bei gedimmten Licht verhalten sich Masthühner ruhiger (GUSSEM et al., 2016; KNOWLES und BROOM, 1990), was Bewegungen und Lautäußerungen angeht. Untersuchungen belegen, dass die Konzentration von Corticosteron abhängig von der Lichtquelle ist (HUTH und ARCHER, 2015). Die Verhaltensbeobachtungen in dieser Studie wurden mit Hilfe einer grünen Lichtquelle durchgeführt, um den Einfluss auf das Verhalten der Masthühner zu minimieren. Masthühner zeigen bei blauem oder grünem Licht weniger Bewegungsaktivität (GUSSEM et al., 2016). Auch in der Studie von GÖCKE (2000) wurde aufgezeigt, dass es bei höheren Lichtintensitäten zu einer stärkeren Unruhe der Masthühner kommt. Ein möglichst dunkles und ruhiges Umfeld ist demnach wichtig, um das Stresslevel und das Verletzungsrisiko niedrig zu halten. Der manuelle Fang kann das ruhige Umfeld besser gewährleisten, weil der anhaltende Maschinenlärm entfällt.

In unserer Untersuchung hat sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen Lichtintensität und Schallpegel nachweisen lassen. Dieses Ergebnis könnte der Tatsache geschuldet sein, dass beim Fangen mit der Fangmaschine der Schallpegel durch den Maschinenlärm verfälscht ist und man nicht zwischen diesem und den Lautäußerungen der Masthühner differenzieren kann.

3. Corticosteron und Cortisol

In der vorliegenden Studie konnte keine signifikante Korrelation zwischen den Glukokortikoiden Corticosteron und Cortisol nachgewiesen werden, auch wenn sie vergleichbaren Schwankungen unterlegen haben. Normalerweise wird bei Vögeln

das Cortisol nicht gemessen, aber es gibt Studien, die dieses Dogma in Frage stellen (LECHNER et al., 2001; SCHMIDT und SOMA, 2008). SCHMIDT und SOMA (2008) haben die Hypothese aufgestellt, dass das Immunsystem von Hühner Cortisol de novo aus Cholesterin synthetisiert und dieses als „Immunosteroid“ fungieren könnte. Es gibt Untersuchungen die darauf hinweisen, dass in den primären lymphatischen Organen von Hühnern, im Thymus und der Bursa Fabricii, Cortisol das meist produzierte Glukokortikoid ist (LECHNER et al., 2001). Es besteht demnach Anlass die Kreuzreaktion von Corticosteron und Cortisol nicht zu vernachlässigen, welche von SCHMIDT und SOMA (2008) in bereits erwähnter Studie auf $< 0,30\%$ getestet wurde. Bei den in dieser Studie verwendeten ELISA-Kits wurde die Spezifität und damit eventuelle Kreuzreaktionen vom Hersteller (Elabscience Biotechnology Co., Ltd) zwar als nicht signifikant angegeben, komplett ausschließen könne man diese aber nicht. Die Intervallgrenzen von Corticosteron und Cortisol waren beim manuellen Fang im Vergleich zum maschinellen Fang vergrößert. Die Konzentration von beiden Glukokortikoiden ist beim manuellen Fang stärker angestiegen. Bei dieser Fangmethode produzieren einzelne Tiere mehr Glukokortikoide im Vergleich zum maschinellen Fang. Ein Grund dafür könnte grober Umgang durch den einzelnen Fänger sein, der Schmerzen und Stress verursacht. Dies könnte am Ermüden der Fänger liegen, aber auch an Faktoren wie hohen Umgebungstemperaturen. Da sowohl Corticosteron als auch Cortisol ansteigen, sollte man die Bedeutung beider Glukokortikoide als Stressmarker beim Geflügel beachten. Da Glukokortikoide aber sehr auf den direkten Mensch-Tier Kontakt reagieren und auch von anderen Faktoren beeinflusst werden (WEIN et al., 2016), könnte in Zukunft der Schwerpunkt auf die Erforschung von alternativen und weniger reaktiven Stressmarkern gelegt werden.

Laut NICOL und SCOTT (1990) ist es notwendig Proben bezüglich physiologischer Stressreaktionen von lebenden Tieren zu sammeln. Gleichzeitig betonen sie, dass direkte Probennahme die Werte verfälschen kann. In der vorliegenden Studie wurde arteriovenöses Mischblut von gerade geschlachteten Masthühnern verwendet. Der direkte Umgang mit den Masthühnern sollte vermieden werden, um durch die Probennahme die Blutparameter nicht zu beeinflussen. Der Nachteil von diesem Vorgehen war, dass ein Einfluss durch Transport und Warten am Schlachthof auf die Blutparameter nicht ausgeschlossen werden konnte. Es ist möglich, dass die Untersuchung von rein venösem Blut oder

Speichel zu anderen Ergebnissen geführt haben könnte. Allerdings muss man für die Entnahme von Blut und Speichel die Tiere fixieren oder sie mit einer intravenösen Venenverweilkanüle versehen, wie in der Studie von Wein et al. (2016) beschrieben. CHLOUPEK et al. (2011) haben in ihrer Studie gezeigt, dass der Anstieg der Corticosteron Konzentration durch die Fixierung zur Blutprobengewinnung besonders stark ansteigt, wenn dieser Prozess länger als 150 s dauert und bei grobem Umgang mit den Tieren. Da in der vorliegenden Studie arteriovenöses Mischblut untersucht wurde, ist ein direkter Vergleich mit Werten aus anderen Studien nicht möglich, da diese venöses Blut untersucht haben. Die Gewinnung von komplett unverfälschten Blutproben scheint fast unmöglich und es bedarf weiterer Forschung eine Lösung für dieses Problem zu finden.

Eine Korrelation zwischen den Blutwerten und einzelnen Verhaltensparametern konnte mit dem verwendeten Versuchsaufbau nicht aufgezeigt werden. Die individuellen Blutproben konnten aus technischen Gründen nicht den Verhaltensbeobachtungen der einzelnen Tiere gegenübergestellt werden, da die Blutproben erst am Schlachthof genommen wurden. Weiterhin könnte die nicht nachgewiesene Korrelation dem relativ geringen Stichprobenumfang geschuldet sein, da die individuellen Werte der Einzeltiere zum Teil stark geschwankt haben, sie aber zur besseren Vergleichbarkeit zu einem Durchschnittswert zusammengerechnet wurden.

VII. SCHLUSSFOLGERUNG

Bei der maschinellen Verladung mit der CMC Apollo Generation 2 stellte der zweite Förderbandwechsel die kritischste Stelle der Fangmaschine dar. An diesem Förderbandwechsel mussten die Masthühner einen Höhenunterschied von circa 10 cm überwinden und gleichzeitig einen Richtungswechsel ausbalancieren. Diese Konstruktion begünstigte die Verhaltensparameter „Flügelschlagen“ und „Fluchtverhalten“. Am zweiten Förderbandwechsel schlugen durchschnittlich 77,4 % der Masthühner mit den Flügeln. Der Höhenunterschied sollte abgeflacht werden, die Richtungsänderung lässt sich hingegen nicht beheben.

Der Einfluss der Bandgeschwindigkeiten auf das Verhalten muss noch eingehender untersucht werden. Mit den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchung konnte keine klare Aussage dazu getroffen werden.

Bei der maschinellen Verladung war der Schallpegel um 6,9 dB signifikant höher als bei der manuellen Verladung. Durch den Motorenlärm konnte nicht zwischen Lautäußerungen der Masthühner und Maschinengeräusche unterschieden werden. Da allerdings keine Korrelationen zur „Lichtintensität“ oder anderen Parametern festgestellt werden konnten und die Werte insgesamt unter den in der Literatur genannten kritischen Werten lagen, scheint der Parameter „Schallpegel“ vernachlässigbar zu sein.

Die Blutprobengewinnung am Schlachthof hat Vor- und Nachteile aufgewiesen. Ein direkter Mensch-Tier-Kontakt war nicht notwendig, welcher die Blutwerte bekanntermaßen beeinflusst hätte. Allerdings wurden diese auch durch den Transport und die Wartezeit am Schlachthof verändert. Es bedarf weiterer Forschung eine geeignete Methode für die Blutprobenentnahme unter Feldbedingungen zu etablieren.

Zwischen den Glukokortikoiden Corticosteron und Cortisol konnte keine Korrelation nachgewiesen werden. Die Intervalle von Corticosteron und Cortisol waren bei manuell gefangenen Masthühnern vergrößert, was auf stärkere individuelle Reaktionen hinwies. Diese individuellen Reaktionen könnten auf unsachgemäßen und groben Umgang einzelner Fänger zurückgeführt werden.

Die Fangmaschine CMC Apollo Generation 2 benötigte auch gut geschultes und aufmerksames Personal. Nichtsdestotrotz arbeitete sie konstanter, da sie weniger von Einflussfaktoren beeinträchtigt wurde. Dies wirkte sich positiv auf das Tierwohl aus.

VIII. ZUSAMMENFASSUNG

Auswirkungen der maschinellen Masthuhn-Verladung im Vergleich zur manuellen Verladung auf Tierwohl und Verhalten anhand von Stressparametern

Das Ziel der vorliegenden Studie war es, die Fangmethoden „maschineller Fang (Mech) mit der Geflügelfangmaschine CMC Apollo Generation 2 (CMC Industries, Cazzago San Martino, Italien)“ und „manuelles Fangen (Man) an zwei Beinen durch professionelle Fänger“ bezüglich Tierwohl und Stressverhalten miteinander zu vergleichen und Unterschiede heraus zu arbeiten. Hierfür wurden pro Fangmethode 10 Herden konventionell aufgezogener Masthühner unter Feldbedingungen untersucht. Das Verhalten jeder Herde wurde zunächst mit Hilfe der Verhaltenstests Stationary Person Test (SPT) und Avoidance Distance Touch Test (ADTT) vor dem Verladen evaluiert. Während der Verladungen wurde das Verhalten der Herden mit einer Kamera gefilmt und per Videoanalyse ausgewertet. Das Verhalten wurde anhand der Parameter „Flügelschlagen“, „Fluchtverhalten“, „Überschlag“ (nur Mech) und „Anschlagen am Container“ (nur Mech) bewertet. Außerdem wurden die physiologischen Stressmarker Corticosteron, Cortisol und die Heterophilen/Lymphozyten Ratio (H/L Ratio) ausgewertet. Hierfür wurden die Blutproben erst am Schlachthof genommen, um ein direktes Handling der Masthühner zu vermeiden. Zudem wurden einige potentielle Einflussfaktoren, wie zum Beispiel Umgebungstemperatur und Lichtintensität, erfasst und mit den Verhaltens- und Blutparametern in Zusammenhang gebracht. Zudem wurden die Ergebnisse der Studie mit dem Verletzungsrisiko in Bezug gesetzt. Anhand der Ergebnisse wurden Vor- und Nachteile der beiden untersuchten Fangmethoden aufgezeigt sowie Empfehlungen zur Verbesserung der Fangprozesse ausgearbeitet.

Die Verhaltenstests SPT und ADTT untersuchten insbesondere die Mensch-Tier-Beziehung, die beim maschinellen Fang stark reduziert war. Zwischen den Verhaltenstests und dem Verhalten von maschinell gefangenen Herden wurde kein Zusammenhang festgestellt. Auch für den manuellen Fang konnten keine konkreten Vorhersagen getroffen werden, da nur wenige signifikante Korrelationen zwischen den Ergebnissen der Verhaltenstests und der Verhaltensparameter nachgewiesen werden konnten.

Die Auswertung des Verhaltensparameters „Flügelschlagen“ war komplex. Bei der Verladung mit der CMC Apollo Generation 2 konnte an fünf Stellen Flügelschlagen ausgelöst werden, beim manuellen Fang gab es hingegen pro Tier nur eine Möglichkeit Flügelschlagen zu beobachten. Der zweite Förderbandwechsel löste beim maschinellen Fangen am meisten Flügelschlagen (77,4 %) aus, gefolgt vom fünften Förderbandwechsel (74,3 %), was dem Absetzen in die Container entsprach. Außerdem konnte beobachtet werden, dass die meisten Masthühner mit den Flügeln schlugen wenn die Förderbänder liefen (31,9 %) sowie wenn diese angehalten wurden oder anliefen (11,7 %). Beim manuellen Fang war auffällig, dass die Wahrscheinlichkeit für Flügelschlagen zwischen den einzelnen Herden stark variierte. Die Wahrscheinlichkeit für Flügelschlagen lag zwischen 24 % und 90 %. Dieser Unterschied zwischen den Fangmethoden lag daran, dass der manuelle Fang von den Faktoren „manuelle Fangmethode“, „Fangdauer“ (OR=1,79; 95% CI [1,44; 2,19]; OR = Odds Ratio, CI = Confidence Interval) und „Durchschnittsgewicht der Herde“ (OR=1,49; 95% CI [1,11;2,22]), beeinflusst wurde. Dafür war das Risiko für Fluchtverhalten beim manuellen Fang um 43 % niedriger gewesen, als beim maschinellen Fang. Das Fluchtverhalten in manuell gefangenen Herde war insbesondere geringer, wenn sich im ADTT viele Tiere berühren ließen (OR=0,98; 95% CI [0,96;1,00]). Allerdings erhöhte beim manuellen Fang das Auftreten von Fluchtverhalten das Risiko für Hämatome (OR=1,07; 95% CI [1,02; 1,13]). Die Häufigkeit der nur für den maschinellen Fang untersuchten Verhaltensparameter „Überschlag“ und „Anschlagen am Container“ hatte Einfluss auf das Risiko für Hämatome und Frakturen. Die Häufigkeit von Anschlagen am Container wurde durch schnellere Bandgeschwindigkeiten der Förderbänder der CMC Apollo Generation 2 erhöht.

Eine Korrelation zwischen den Einflussfaktoren „Schallpegel“ und „Lichtintensität“ konnte nicht nachgewiesen werden. Ein signifikanter Unterschied konnte beim durchschnittlichen Schallpegel festgestellt werden. Beim maschinellen Fang betrug er 82,3 dB, beim manuellen Fang 75,4 dB.

Zwischen den physiologischen Stressmarkern Corticosteron, Cortisol und H/L Ratio selbst, aber auch in Bezug auf die Verhaltensparameter konnten keine signifikanten Korrelationen festgestellt werden. Beim manuellen Fang zeigte sich, dass die Corticosteronkonzentration von der Höhe der Lichtintensität ($\beta=3,75$;

95% CI [2,55; 4,95]) und hohen Umgebungstemperaturen ($>20^{\circ}\text{C}$) ($\beta=46,34$; 95% CI [39,18; 53,27]) beeinflusst wurde.

Es zeigte sich, dass der direkte Vergleich der beiden Fangmethoden äußerst komplex ist, weil die Fangbedingungen und dadurch die Interpretation voneinander abweichen. Es stellte sich heraus, dass die Anwendung der Verhaltenstests SPT und ADTT zur Vorhersage des Verhaltens der Masthühner während der Verladung für den maschinellen Fang nur bedingt anwendbar waren. Der Vorteil vom maschinell Fang gegenüber dem manuellen Fang war, dass die Einflussfaktoren „Durchschnittsgewicht der Herde“ ($\text{OR}=1,49$; 95% CI [1,11; 2,22]), „Lichtintensität“ ($\beta=3,75$; 95% CI [2,55; 4,95]), „Fangdauer“ ($\text{OR}=1,79$; 95% CI [1,44; 2,19]) und „Umgebungstemperatur“ ($\beta=46,34$; 95% CI [39,18; 53,27]) weniger Auswirkungen auf den Fangprozess, das Verhalten der Masthühner und den Blutparameter Corticosteron hatten. Diese Studie hat ergeben, dass der Einsatz der Fangmaschine CMC Apollo Generation 2 nur bedingt weniger Stress auslösen und das Tierwohl während der Verladung weniger stark beeinträchtigen kann, als manuelles Fangen und eine klare Aussage hierzu mit dem vorliegenden Studiendesign nicht möglich ist. Demnach sind noch Anpassungen an der untersuchten Fangmaschine, zum Beispiel am zweiten Förderbandwechsel, notwendig. Unabhängig von der Fangmethode ist es nach wie vor entscheidend, wie gut geschult die Fänger sind und ob sie die Masthühner mit Sorgfalt und Umsicht behandeln, beziehungsweise die Fangmaschine korrekt einstellen und vorsichtig anwenden.

IX. SUMMARY

Effect of manual versus mechanical harvesting methods on the behaviour and welfare of broilers investigated using stress indicators.

The aim of this study was to compare the “mechanical harvesting (Mech) with the poultry harvesting machine CMC Apollo Generation 2 (CMC Industries, Cazzago San Martino, Italien)” and the “manual harvesting (Man) performed by professional catchers grabbing the broilers by both legs” with focus on animal welfare and stress-induced behaviour. Ten flocks of conventionally raised broilers were assessed for each harvesting method under field conditions. Previous to harvesting the behaviour of the flocks was assessed using the Stationary Person Test (SPT) and Avoidance Distance Touch Test (ADTT) behaviour tests. The harvesting processes were filmed and the behaviour of the flocks examined by video analysis. The behaviour parameters “wing flapping”, “escape behaviour”, “flip” (only Mech) and “bump against the container” (only Mech) were used in the analysis. Finally, blood samples were taken at the abattoir to examine the physiological stress markers corticosterone, cortisol and the heterophil/lymphocyte ratio (H/L ratio). The samples were taken at the abattoir in order to avoid direct handling of the broilers. Some potential influencing factors, e.g. outdoor temperature and light intensity, were assessed as well and their influence on the behaviour and blood parameters. Furthermore, the relationship between the behaviour, blood parameters and the risk of haematomas and fractures was analysed. The advantages and disadvantages of both investigated harvesting methods were outlined and recommendations made for the improvement of both harvesting processes.

The SPT and ADTT behaviour tests focused on the human-animal-relationship, which is strongly reduced by the use of a harvesting machine. No relationship was found between the test results and the behaviour of mechanically harvested flocks. The tests also failed to precisely predict the behaviour during manual harvesting as only few statistically significant correlations were found between the behaviour tests and parameters.

The evaluation of the behaviour parameter “wing flapping” proved to be complex. Mechanically harvested broiler showing wing flapping were assessed at five different positions while passing through the CMC Apollo Generation 2. Manually

harvested broilers were only assessed if they showed wing flapping at all. Due to technical circumstances it was not possible to analyse the moment of wing flapping more profound. The second transition of the harvesting machine had the highest risk for wing flapping (77.4 %) followed by the fifth transition (74.3 %), which corresponded to the depositing in the containers. The mean risk for wing flapping was highest on running loading belts (31.9 %) and second highest if the loading belts were in the process of starting or stopping (11.7 %). The mean risk for wing flapping of manually harvested flocks varied considerably. The mean risk for wing flapping varied between 24 % and 90 %. Manual harvesting was affected by the influencing factors “manual catching method”, “catching duration” (OR=1.79; 95% CI [1.44; 2.19]; OR = Odds Ratio, CI = Confidence Interval) and “average weight of the flocks” (OR=1.49; 95% CI [1.11;2.22]), which explained the range of values. The risk for escape behaviour was 43 % lower during manual harvesting compared with mechanical harvesting. The escape behaviour of manually harvested broilers was influenced by the ADTT. If a high number of broilers was touched in the ADTT, less broilers showed escape behaviour during the harvesting process (OR=0.98; 95% CI [0.96;1.00]). The occurrence of escape behaviour elevated the risk for haematomas of manually harvested flocks (OR=1.07; 95% CI [1.02; 1.13]). The occurrence of the behaviour parameters assessed during mechanical harvesting (“flip” and “bump against the containers”) influenced the risk for haematomas and fractures. The frequency of bumps against the container was elevated by increasing the speed of the loading belts of the CMC Apollo Generation 2.

A correlation between the influencing factors “noise level” and “light intensity” was not found. The noise level during mechanical harvesting (82.3 dB) was significantly higher compared to manual harvesting (75.4 dB).

The analysis of the physiological stress markers corticosterone, cortisol and H/L ratio showed neither significant correlations between these parameters themselves nor in context with the behaviour parameters. The corticosterone concentration was influenced by light intensity (beta=3.75; 95% CI [2.55; 4.95]) and high outdoor temperatures (>20°C) in manually harvested flocks (beta=46.34; 95% CI [39.18; 53.27]).

As the harvesting conditions of the investigated harvesting methods differed considerably, comparing both harvesting methods was very complex. As the conditions differed so did the interpretation of the results. The results of this study

showed that the behaviour tests SPT and ADTT were not suitable to predict the behaviour of mechanically harvested broilers. The advantage of the mechanical harvesting method compared to the manual harvesting method was, that the influencing factors “average weight of the flocks” (OR=1.49; 95% CI [1.11;2.22]), “light intensity” (beta=3.75; 95% CI [2.55; 4.95]), “catching duration” (OR=1.79; 95% CI [1.44; 2.19]) and “outdoor temperature” (beta=46.34; 95% CI [39.18; 53.27]) had less impact on the harvesting process, on the behaviour of the broilers during the loading and on the blood parameter corticosterone. This study showed that the use of the harvesting machine CMC Apollo Generation 2 puts only to a certain extent less stress on the broilers and compromises animal welfare less than manual harvesting and that the used study design doesn’t allow a clear statement. Nonetheless it is necessary to make some improvements to the CMC Apollo Generation 2, e.g. at the second transition. Regardless of the harvesting method, the training of the catchers, their treatment of the broilers and the correct use and setting of the harvesting machine are still crucial in reducing stress and assuring animal welfare.

X. ERWEITERTES LITERATURVERZEICHNIS

- DE JONG, I.C., VAN VOORST, A. S., ERKENS, J. H. F., EHLHARDT, D. A., BLOKHUIS, H. J. (2001). Determination of the circadian rhythm in plasma corticosterone and catecholamine concentrations in growing broiler breeders using intravenous cannulation. *Physiology & Behavior* 74, 299–304.
- BAEUMER, E. (1964): Das dumme Huhn - Verhalten des Haushuhns. Stuttgart, Deutschland. Kosmos-Verlag - Frankh'sche Verlagshandlung.
- BAYLISS, P. A. , HINTON, M. H. (1990): Transportation of broilers with special reference to mortality rates. *Applied Animal Behaviour Science* 28, 93–118.
- BUNDESMINISTERIUM FÜR ERNÄHRUNG, LANDWIRTSCHAFT UND VERBRAUCHERSCHUTZ (BMELV) (2012): Bundeseinheitliche Leitlinie für die gute betriebliche Praxis zur Haltung von Masthühnern.
- CHLOUPEK, P., BEDANOVA, I., CHLOUPEK, J., VECEREK, V. (2011): Changes in Selected Biochemical Indices Resulting from Various Pre-sampling Handling Techniques in Broilers. *Acta Veterinaria Scandinavica* 53: 31
- CMC INDUSTRIES - Ciemmecalabria Srl (2019):
URL: <http://poultry.cmcindustries.com/index.php>
(abgerufen am 28. Februar 2019).
- DELEZIE, E., VERBEKE, W., DE TAVENIER, J., DECUYPERE, E. (2007). Consumer perception versus scientific evidence about alternatives for manual catching of broilers in Belgium. *Poultry Science* 86, 413–419. doi.org/10.1093/ps/86.2.413.
- DUNCAN, I. J. H., SLEE, G. S., KETTLEWELL, P., BERRY, P., CARLISLE, A. J. (1986). Comparison of the stressfulness of harvesting broiler chickens by machine and by hand. *British Poultry Science* 27, 109–114. doi: 10.1080/00071668608416861.
- EDELAAR, P., SERRANO, D., CARRETE, M., BLAS, J., POTTI, J., TELLA, J. L. (2012): Tonic immobility is a measure of boldness toward predators: an application of Bayesian structural equation modeling. *Behavioral Ecology* 23, 3, 619–626.
- ENGELHARDT, V., W., BREVES, G. (2010): Physiologie der Haustiere (Vol. 3). Stuttgart. Enke Verlag.
- EUROPEAN COMMISSION (1995). Empfehlung in Bezug auf Haushühner der Art Gallus gallus.
URL: https://www.bmel.de/SharedDocs/Downloads/Tier/Tierschutz/GutachtenLeitlinien/EU-HaltungHaushuehner.pdf?__blob=publicationFile
(abgerufen am 28. Februar 2019).

- FEDERAL MINISTRY OF FOOD AND AGRICULTURE (2012). Leitlinie zur Haltung von Masthühnern, Bonn. URL: https://www.gwv-mv.de/fileadmin/Inhalt/fachinfos/SW_Gefluegelleitlinie.pdf (abgerufen am 28. Februar 2019).
- FORKMAN, B., BOISSY, A., MEUNIER-SALAÜN, M. C., CANALI, E., JONES, R. B. (2007): A critical review of fear tests used on cattle, pigs, sheep, poultry and horses. *Physiology & Behavior* 92, 3, 340–374.
- FREEMAN, B. M., FLACK, I. H. (1980): Effects of handling on plasma corticosterone concentrations in the immature domestic fowl. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 66A, 77–81.
- FRIES, R. (2014): Fangen von Geflügel. EuroTier 2014 Hannover – Forum Geflügel.
- GALLUP, G. G., NASH, R. F., JR., WAGNER, A. M. (1971): The tonic immobility reaction in chickens: Response characteristics and methodology. *Behavior Research Methods & Instruments*. 3.
- GANTERT, H. K. (2013). Ultrastrukturelle, glykohistochemische und immunhistochemische Untersuchungen am Blut des Haushuhnes (*Gallus gallus domesticus*). Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität, München, Germany.
- GOCKE, A. (2000). Untersuchung über den Einsatz einer Hänchenfangmaschine in Mastbetrieben in Norddeutschland. TiHo Hannover.
- GOESSLING, J. M., KENNEDY, H., MENDOÇA, M. T., WILSON, A. E. (2015). A meta-analysis of plasma corticosterone and heterophil:lymphocyte ratios – Is there conservation of physiological stress responses over time? *Functional Ecology* 29, 1189–1196. doi: 10.1111/1365-2435.12442.
- GRAML, C., NIEBUHR, K., WAIBLINGER, S. (2008a). Reaction of laying hens to humans in the home or a novel environment. *Applied Animal Behaviour Science* 113, 98–109. doi: 10.1016/j.applanim.2007.10.004.
- GRAML, C., WAIBLINGER, S., NIEBUHR, K. (2008b). Validation of tests for on-farm assessment of the hen–human relationship in non-cage systems. *Applied Animal Behaviour Science* 111, 301–310. doi: 10.1016/j.applanim.2007.06.002.
- GROSS, W.B., SIEGEL, H. S. (1983). Evaluation of the heterophil/lymphocyte ratio as a measure of stress in chickens. *Avian Diseases* 27, 972–979. doi: 10.2307/1590198.
- GUSSEM DE, M., MAILYAN, E., MIDDLEKOOP VAN, K., MULLEM VAN, K., VEER VAN'T, E. (2016). Broiler Signals. A Practical Guide for Broiler Focused Management. Roodbont Publishers B.V., Zutphen, Netherlands.
- GUDEV, D., MONEVA, P., POPOVA-RALCHEVA, S., SREDKOVA, V. (2011): Tonic immobility and adrenal response in chickens fed supplemental tryptophan. *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 17, 560–566.

- HAKANSSON, F., 2015. Effect of daytime and age on the avoidance and approach behaviour of commercial Danish broiler chicken. Master thesis, Linköpings universitet, Sweden.
- HUTH, J. C., ARCHER, G. S. (2015). Comparison of Two LED Light Bulbs to a Dimmable CFL and their Effects on Broiler Chicken Growth, Stress, and Fear. *Poultry Science* 94, 2027–2036. doi: doi.org/10.3382/ps/pev215
- IMAI, K., YAMAMOTO, T. (2013). Identification and Sensitivity Analysis for Multiple Causal Mechanisms: Revisiting Evidence from Framing Experiments. *Political Analysis*, 21(2), 141–171.
- JACOBS, L., DELEZIE, E., DUCHATEU, L., GOETHALS, K., AMPE, B., BUYSE, J., TUYTTENS, F. A. M. (2017). Impact of transportation duration on stress responses in day-old chicks from young and old breeders. *Research in Veterinary Science* 112, 172–176. doi: 10.1016/j.rvsc.2017.04.015.
- JOHANSSON, A., BLOKHUIS, H. J., BERCKMANS, D., BUTTERWORTH, A. (2015). Development of an automatic method to assess human–animal relationship in broilers on flock level. Conference paper, 7th European Conference on Precision Livestock Farming, Milan, Italy, pp. 195–201.
- JONES, R. B., FAURE, J. M. (1981). The effects of regular handling on fear responses in the domestic chick. *Behavioural Processes* 6, 135–143. doi: 10.1016/0376-6357(81)90032-2.
- JONES, R. B., BEUVING, G., BLOKHUIS, H. J. (1987): Tonic Immobility and Heterophil/Lymphocyte Responses of the Domestic Fowl to Corticosterone Infusion. *Physiology & Behavior* 42, 249–253.
- JONES, R. B. (1992). The nature of handling immediately prior to test affects tonic immobility fear reactions in laying hens and broilers. *Applied Animal Behaviour Science* 34, 247–254.
- KANNAN, G., MENCH, J. A. (1996). Prior handling does not significantly reduce the stress response to pre-slaughter handling in broiler chickens. *Applied Animal Behaviour Science* 51, 87–99. doi: 10.1016/S0168-1591(96)01076-3.
- KANNAN, G., HEATH, J. L., WABECK, C. J., MENCH, J. A. (1997): Shackling of broilers: effects on stress responses and breast meat quality. *British Poultry Science* 38, 4, 323–332.
- KITTELSEN, K. E., GRANQUIST, E. G., AUNSMO, A. L., OPPERMANN MOE, R., TOLO, E. (2018). An evaluation of two different broiler catching methods. *Animals* 8, 141. doi: 10.3390/ani8080141.
- KNIERIM, U., GOCKE, A. (2003): Effect of catching broilers by hand or machine on rates of injuries and dead-on-arrivals. *Animal Welfare* 12, 63–73.
- KNOWLES, T. G., BROOM, D. M. (1990): The handling and transport of broilers and spent hens. *Applied Animal Behaviour Science* 28, 75–91. doi: 10.1016/0168-1591(90)90047-H.
- LACY, M. P., CZARICK, M. (1998): Mechanical Harvesting of Broilers. *Poultry Science* 77, 1794–1797.

- LANGKABEL, N., BAUMANN, M. P. O., FEILER, A., SANGUANKIAT, A., FRIES, R. (2015): Influence of two catching methods on the occurrence of lesions in broilers. *Poultry Science* 94, 1735–1741. doi: 10.3382/ps/pev164.
- LIEN, R. J., BILGILI, S. F., HESS, J. B., JOINER, K. S. (2012): Induction of deep pectoral myopathy in broiler chickens via encouraged wing flapping. *The Journal of Applied Poultry Research* 21, 556–562.
- LECHNER, O., DIETRICH, H., WIEGERS, G. J., VACCHIO, M., WICK, G. (2001): Glucocorticoid production in the chicken bursa and thymus. *International Immunology* 13, 6, 769–776.
- LENTFER, T. L., PENDL, H., GEBHARDT-HENRICH, S. G., FRÖHLICH, E. K. F., VON BORELL, E. (2015): H/L ratio as a measurement of stress in laying hens – methodology and reliability. *British Poultry Science* 56, 157–163. doi: 10.1080/00071668.2015.1008993.
- MARTIN, P., BATESON, P. (2007): *Measuring Behaviour*, Third Edition. Cambridge University Press, New York.
- MCSHANE, B. B., GAL, D. (2017). Statistical significance and the dichotomization of evidence. *Journal of the American Statistical Association*, 112(519), 885–895.
- NICOL, C. J., SCOTT, G. B. (1990): Pre-slaughter handling and transport of broiler chicken. *Applied Animal Behaviour Science* 28, 57–73. doi: 10.1016/0168-1591(90)90046-G.
- NIJDAM, E., ARENS, P., LAMBOOIJ, E., DECUYPERE, E., STEGEMAN, J. A. (2004): Factors Influencing Bruises and Mortality of Broilers During Catching, Transport, and Lairage. *Poultry Science* 83, 1610–1615.
- NEWBERRY, R. C., HUNT, J. R., GARDINER, E. E. (1988): Influence of Light Intensity on Behavior and Performance of Broiler Chickens. *Poultry Science* 67, 1020–1025.
- R CORE TEAM (2018). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- RUE, H., MARTINO, S., CHOPIN, N. (2009). Approximate Bayesian Inference for Latent Gaussian Models Using Integrated Nested Laplace Approximations (with discussion), *Journal of the Royal Statistical Society B*, 71, 319–392.
- SAPOLSKY, R. M., ROMERO, L. M., MUNCK, A. U. (2000). How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocrine Reviews* 21, 55–89. doi: 10.1210/edrv.21.1.0389.
- SCANES, C. G. (2016): Biology of stress in poultry with emphasis on glucocorticoids and the heterophil to lymphocyte ratio. *Poultry Science* 95, 2208–2215.
- SCHMIDT, K. L., SOMA, K. K. (2008): Cortisol and corticosterone in the songbird immune and nervous systems: local vs. systemic levels during development. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 295, R103–R110.

- SCOTT, G. B., MORAN, P. (1993). Fear levels in laying hens carried by hand and by mechanical conveyors. *Applied Animal Behaviour Science* 36, 337–345. doi: 10.1016/0168-1591(93)90131-8.
- SELIGER, C., SCHAERER, B., KOHN, M., PENDL, H., WEIGEND, S., KASPERS, B., HÄRTLE, S. (2012). A rapid high-precision flow cytometry based technique for total white blood cell counting in chickens. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 145, 86–99. doi: 10.1016/j.vetimm.2011.10.010.
- STATISTISCHES BUNDESAMT (2019): Geflügelschlachtereien, Geschlachtete Tiere, Schlachtmenge: Deutschland, Monate, Geflügelart. GENESIS-Online Datenbank. <https://www-genesis.destatis.de/genesis/online/logon?language=de&sequenz=tabelleErgebnis&selectionname=41322-0002&leerzeilen=false> (abgerufen am 08. September 2019).
- TINGLEY, D., YAMAMOTO, T., HIROSE, K., KEELE, L., IMAI, K. (2014). mediation: R Package for Causal Mediation Analysis. *Journal of Statistical Software*, 59(5), 1–38. URL <http://www.jstatsoft.org/v59/i05/>.
- TURCSÁN, Z. S., SZIGETI, J., VARGA, L., FARKAS, L., BIRKÁS, E., TURCSÁN, J. (2001). The effects of electrical and controlled atmosphere stunning methods on meat and liver quality of geese. *Poultry Science* 80, 1647–1651. doi: 10.1093/ps/80.11.1647.
- WALKER, M., DÍEZ-LEÓN, M., MASON, G. (2014). Animal welfare science: Recent publication trends and future research priorities. *International Journal of Comparative Psychology* 27, 80–100.
- WASSERSTEIN, R. L., LAZAR, N. A. (2016). The ASA’s statement on p-values: context, process, and purpose. *The American Statistician*, 70(2), 129–133.
- WEIN, Y., BAR SHIRA, E., FRIEDMAN, A. (2016): Avoiding handling-induced stress in poultry: use of uniform parameters to accurately determine physiological stress. *Poultry Science* 00, 1–9.
- WELFARE QUALITY® CONSORTIUM (2009). Welfare Quality® assessment protocol for poultry. Welfare Quality® consortium, 8200 AB Lelystad, The Netherlands. ISBN/EAN: 978-90-78240-06-8.
- XU, L., ZHANG, L., YUE, H. Y., WU, S. G., ZHANG, H. J., JI, F., QI, G. H. (2011a). Effect of electrical stunning current and frequency on meat quality, plasma parameters, and glycolytic potential in broilers. *Poultry Science* 90, 1823–1830. doi: 10.3382/ps.2010-01249.
- XU, L., JI, F., YUE, H. Y., WU, S. G., ZHANG, H. J., ZHANG, L., QI, G. H. (2011b). Plasma variables, meat quality, and glycolytic potential in broilers stunned with different carbon dioxide concentrations. *Poultry Science* 90, 1831–1836. doi: 10.3382/ps.2010-01330.
- ZULKIFLI, I., RASEDEE, A., NOR SYAADAH, O., CHE NORMA, M. T., 1998: Daylength effects on stress and fear responses in broiler chickens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 11, 751–754.

XI. ANHANG

1. Abbildungsverzeichnis

1.1. Abbildungen aus den Kapiteln III, V und VI

Abbildung 1: Die verwendeten Container der Firma Marel Stork Poultry Processing (Gardabaer, IS-210 Iceland) während einer maschinellen Verladung, wobei die unteren Schubladen bereits mit Masthühner beladen wurden.....	10
Abbildung 2: Darstellung der Dauer (s) der Tonic Immobility untersuchter Tiere im Vorversuch in Abhängigkeit vom Gewicht (g).....	14
Abbildung 3: Ausschnitt aus einem Video des Stationary Person Test inklusive des Auswertungs-Rasters.	15
Abbildung 4: Darstellung des Fangkopf der Fangmaschine und der weiteren Förderbänder mit Positionsmarkierung (1-4) der Förderbandwechsel und damit der Verhaltensbeobachtungen (© CMC INDUSTRIES).	17
Abbildung 5: Darstellung des mit Containern beladenen Karussells, der Verladeplattform und des schwenkbaren Arms der Fangmaschine mit Positionsmarkierung (5) des Förderbandwechsel und damit der Verhaltensbeobachtungen (© CMC INDUSTRIES).	17
Tabelle 1: Deskriptive Beschreibung der Häufigkeit (%) von Flügelschlagen (FS) an den einzelnen Förderbandwechseln (FBW) während der maschinellen Verladung mit der CMC Apollo Generation 2 (Mech = Fangmaschinenverladung/mechanical harvesting).....	35
Abbildung 6: Detaillierte Betrachtung des Parameters „Flügelschlagen“ am ersten Förderbandwechsel in Abhängigkeit von der Bewegung des ersten Förderbandes der Fangmaschine Apollo Generation 2 (Mech = Fangmaschinenverladung/mechanical harvesting).....	36

Abbildung 7: Detaillierte Betrachtung des Parameters „Flügelschlagen“ am zweiten Förderbandwechsel in Abhängigkeit von der Bewegung des ersten und zweiten Förderbandes der Fangmaschine Apollo Generation 2 (Mech = Fangmaschinenverladung/mechanical harvesting).....	37
Abbildung 8: Detaillierte Betrachtung des Parameters „Flügelschlagen“ am dritten Förderbandwechsel in Abhängigkeit von der Bewegung des zweiten und dritten Förderbandes der Fangmaschine Apollo Generation 2 (Mech = Fangmaschinenverladung/mechanical harvesting).....	37
Abbildung 9: Detaillierte Betrachtung des Parameters „Flügelschlagen“ am vierten Förderbandwechsel in Abhängigkeit von der Bewegung des dritten und vierten Förderbandes der Fangmaschine Apollo Generation 2 (Mech = Fangmaschinenverladung/mechanical harvesting).....	38
Tabelle 2: Deskriptive Beschreibung des Merkmals Schallpegel (dB) in Zusammenhang mit der Lichtintensität (lux). Darstellung der Mindestwerte (Min), Höchstwerte (Max), Mittelwerte (Mean), Standardabweichungen (SD) und der Korrelation zwischen Schallpegel und Lichtintensität.....	39
Tabelle 3: Deskriptive Beschreibung der Blutparameter Corticosteron (ng/ml), Cortisol (ng/ml) und H/L Ratio für das Fangen mit der Fangmaschine CMC Apollo Generation 2 (Mech) sowie dem manuelle Zweibein-Fang (Man), (H/L Ratio = Heterophilen/Lymphozyten Ratio). Darstellung der Mindestwerte (Min), Höchstwerte (Max), Mittelwerte (Mean) und die Standardabweichungen (SD).....	40
Tabelle 4: Korrelationskoeffizienten (inklusive der Intervallgrenzen) der Blutparameter Corticosteron, Cortisol und der H/L Ratio untereinander (H/L Ratio = Heterophilen/Lymphozyten Ratio).....	40

1.2. Abbildungen in den bereits publizierten Ergebnissen (Kapitel IV)

Table 1: Specific information on the flocks, environmental conditions during the loading and the catching procedures.....	25
---	----

Table 2: Definition and categorization of the observed behaviour patterns used for the assessment of the behaviour during the behavioural tests and for the evaluation of the recorded videos.	26
Fig. 1: The CMC Apollo Generation 2 (CMC Industries – Ciemmecalabria S.r.l., Cazaggo, Italy) front collection head at the moment of loading broilers in a darkened stable.....	27
Fig. 2: The CMC Apollo Generation 2 (CMC Industries – Ciemmecalabria S.r.l., Cazaggo, Italy) caging area with the container carousel while depositing the broilers.....	27
Table 3: Distribution of the behaviour patterns shown at the transitions of the harvesting machine and calculation of the sample size. Numbers are the numbers of broilers assessed (n/a = not assessed)	27
Table 4: Overview of results of the behavioural tests, behaviour observations and blood parameters as well as the outdoor temperature and light intensity (n/a = not assessed).....	28
Fig. 3: Correlation between the results of the pre-treatment examinations and the risk for haematomas	29
Fig. 4: Probability of wing flapping depending on the manual harvesting technique	29
Fig. 5: Scatter diagrams showing the correlations between the catching duration, the occurrence of bumps and the occurrence of haematomas.....	30
Fig. 6: Plasma corticosterone concentrations influenced by the outdoor temperature.....	31

XII. ABKÜRZUNGEN

DOA	Dead on Arrival
Mech	Fangmaschinenverladung / mechanical harvesting
Man	manueller Fang / manual harvesting
TI	Tonic Immobility
SPT	Stationary Person Test
ADTT	Avoidance Distance Touch Test
AD	Avoidance Distance
H/L Ratio	Heterophilen/Lymphozyten Ratio
FS	Flügelschlagen
FBW	Förderbandwechsel
FB	Förderband
SD	Standardabweichung
OR	Odds Ratio
CI	Confidence Interval

XIII. DANKSAGUNG

Mein Dank gilt den Geflügelmästern, die uns am Tag vor sowie während der Verladungen ihrer Tiere haben dabei sein lassen. Der Firma CMC Industries danke ich für die fachliche Beratung zu der Fangmaschine Apollo Generation 2 und für die Erlaubnis, die von ihnen erstellten Abbildungen zu verwenden. Außerdem bedanke ich mich herzlich bei Martin Gotthart, der für uns den Kontakt mit den Betrieben übernommen und uns bei den Untersuchungen stets tatkräftig unterstützt hat. Auch Herrn Dr. Josef Bachmeier, Geschäftsführer der Brüterei Süd, danke ich für seinen fachlichen Beitrag zu dem Forschungsprojekt. Ohne ihre Unterstützung hätte diese Studie nicht stattfinden können.

Bedanken möchte ich mich auch bei den beiden Labormitarbeitern des Lehrstuhls, Nicole Zobel und Hermann Kuchler sowie bei Dr. Sonja Härtle vom Lehrstuhl für Tierphysiologie, die mich tatkräftig bei der Verarbeitung und Auswertung der Blutproben unterstützt haben.

Dank gilt zudem Prof. Dr. Dr. Michael Erhard für die Möglichkeit der Promotion am Lehrstuhl für Tierschutz, Verhaltenskunde, Tierhygiene und Tierhaltung.

Ich bedanke mich bei meinen Betreuerinnen Dr. Helen Louton, Dr. Sandrina Klein und Dr. Elke Rauch für ihre tatkräftige Unterstützung, ihre fachlichen Anregungen und die wertvolle Kritik bei der Ausarbeitung der Dissertation.

Ganz besonderer Dank gebührt meinen Kolleginnen Angela Schug und Julia Mönch für ihre Hilfe und Gesellschaft während der oft nächtlichen Ausfahrten zu den Geflügelmästern und dem Schlachthof. Dank euch, Angela und Julia, bestanden die praktischen Untersuchungen nicht nur aus anstrengender Arbeit sondern auch aus Spaß, guter Musik und viel wachhaltendem Kaffee.

Herrn Dr. Paul Schmidt, freiberuflicher Statistiker, danke ich für seine gute Arbeit und die wertvollen Tipps bei der Auswertung und Interpretation der Daten.

Schließlich möchte ich mich insbesondere bei meiner Familie, meinem geliebten Justus, Wuff und meinen tollen Freunden von Herzen bedanken: Für eure emotionale als auch tatkräftige Unterstützung, stärkende Worte, Zuversicht, Liebe und für euer Vertrauen.

Das Projekt wurde vom Bayerischen Staatsministerium für Umwelt und Verbraucherschutz über das Bayerische Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit finanziell gefördert.